

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Übersetzung der  
europäischen Patentschrift

67 EP 0 374 190 B1

10 DE 38 55 749 T 2

51 Int. Cl. 8:  
A 61 B 5/00  
G 01 N 33/48  
G 01 N 21/31

21	Deutsches Aktenzeichen:	38 55 749.5
86	PCT-Aktenzeichen:	PCT/US88/03027
86	Europäisches Aktenzeichen:	88 908 892.8
87	PCT-Veröffentlichungs-Nr.:	WO 89/01758
88	PCT-Anmeldetag:	1. 9. 88
87	Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung:	9. 3. 89
87	Erstveröffentlichung durch das EPA:	27. 6. 90
87	Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA:	8. 1. 97
47	Veröffentlichungstag im Patentblatt:	24. 4. 97

30 Unionspriorität: 32 33 37  
04.09.87 US 93482

73 Patentinhaber:  
Vander Corp., Durham, N.C., US

74 Vertreter:  
Patentanwälte  
HANSMANN-KLICKOW-HANSMANN, 22767  
Hamburg

84 Benannte Vertragsstaaten:  
DE, FR, GB

72 Erfinder:  
JÖBSIS, Frans, F., Efland, NC 27243, US

54 SPEKTROPHOTOMETRISCHES VERFAHREN ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER KONZENTRATION  
EINER VERDÜNNTEN KOMPONENTE IN EINEM LICHT-/ ODER EINEM ANDEREN  
STRAHLUNGSBRECHUNGSMEDIUM

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patentamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 38 55 749 T 2

DE 38 55 749 T 2

# HANSMANN · KLICKOW · HANSMANN

PATENTANWÄLTE

EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

DIPL.-ING. DIERK HANSMANN · DR.-ING. HANS-HENNING KLICKOW · GEORG HANSMANN (†1977)

Telephone international: (++ 49 40) 38 24 57 / 3 89 84 45 · Facsimile international: (++ 49 40) 3 89 35 02  
JESSENSTRASSE 4 · 22767 HAMBURG · TEL. (040) 38 24 57 / 3 89 84 45 · FAX (040) 3 89 35 02

**88 908 892.8-2305**

**(P.5906 EU/DE)**

Anmelderin: VANDER CORPORATION  
P. O. Box 2725  
DURHAM, NC 27705-0725/USA

---

## Spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration einer verdünnten Komponente in einem Licht- oder einem anderen Strahlungsbrechungsmedium

---

Die Erfindung betrifft allgemein ein spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration einer verdünnten Komponente in einer Licht- oder einer anderen Strahlungs-Brechungsumgebung, das die verdünnte Komponente in Kombination mit einer bekannten Bezugskomponente mit bekannter Konzentration enthält.

Auf vielen technischen Gebieten besteht die Notwendigkeit einer quantitativen Bestimmung der Konzentrationen von verdünnten Komponenten in Umgebungen (Medien), in

denen die verdünnten Komponente in Kombination mit einer Bezugskomponente mit bekannter Konzentration vorliegt. Beispiele für Umgebungen solcher Art sind u.a. Enzyme, Proteine und Metaboliten in Körperflüssigkeiten; säurehaltige Dämpfe oder gasförmige Komponenten (z.B. Hydrogensulfid und Sulfursäure, Salpetersäure, Kohlenmonoxyd usw.) in der Atmosphäre; Salzkonzentrationen im Meerwasser, das entsalzt werden soll; Ozon in mit Ozon angereicherter Luft, die in Abwasser-Ozon-systemen verwendet wird usw.

Insbesondere auf dem Gebiet der Medizin und der Gesundheitsvorsorge besteht ein besonderer Bedarf nach einer eingriffsfreien, kontinuierlichen, atraumatischen, in vivo-, und in situ- Bestimmung der Anteile bzw. Mengen von kritischen metabolitischen Indikatoren in Körperflüssigkeiten oder Geweben eines menschlichen Patienten. Beispiele für solche Körperflüssigkeiten sind das Blut und die Flüssigkeiten, die mit den lymphatischen und neurologischen Systemen des Körpers verbunden sind. Weitere Beispiele, die mit dem menschlichen Kreislaufsystem verbunden sind, umfassen die Überwachung der Glucose und des oxydierten bzw. deoxydierten, arteriell bzw. venös gefärbten Hämoglobins im Blutstrom. Weiterhin ist die Überwachung bestimmter Enzymarten wie zum Beispiel der Cytochrom-c-Oxidase-Enzyme (besser bekannt als Cytochrom a, a<sub>3</sub>) oder metabolitischer Substrate (wie zum Beispiel Glucose) oder Produkte (wie zum Beispiel Kohlendioxyd) in lokalisierten Geweben, wie zum Beispiel dem Gehirn und Muskeln, eine praktische Anwendung der spektrophotometrischen Technologie, deren Bedeutung ständig zunimmt.

Es sind bereits spektrophotometrische Verfahren zur Überwachung der Metaboliten in Körperflüssigkeiten

vorgeschlagen worden. Diese Verfahren beeinhalteten das Auftreffen einer Strahlung, die im allgemeinen im sichtbaren oder nahen Infrarotbereich liegt, auf ein äußeres Körperteil des Patienten, sowie ein Eindringen der Strahlung durch die Haut und in das innere Gewebe, die im Hinblick auf ihre Reflektion oder Transmission bei einer Wellenlängenbedingung, bei der die Metaboliten oder andere zu überwachende Komponenten die Strahlung selektiv absorbieren, überwacht wird. Dieses Verfahren ist im wesentlichen darauf beschränkt, aus der gemessenen abgegebenen Strahlung (reflektiert oder ausgesendet) eine qualitative Bestimmung der Eigenschaften der Metaboliten vorzunehmen. Am besten kann ein halb-quantitatives Ergebnis in einer sogenannten Trend-Überwachungs-Betriebsart erzielt werden, bei der Änderungen der Konzentration im Verhältnis zu dem Zustand bei einer ursprünglichen Basislinie bei unbekannter Konzentration überwacht werden können.

Gelöste Konzentrationen in verdünnten flüssigen Medien können theoretisch mit dem Gesetz von Beer-Lambert quantifiziert werden, wonach

$$\log (I_0/I) = d \times E \times c$$

wobei:

$I_0$  = Intensität der auf die Probe einfallenden Quellenstrahlung;

$I$  = Intensität der durch die Probe ausgesendeten Strahlung;

$E$  = Absorptions- (Extinction-) Koeffizient des gelösten Stoffes bei der Wellenlänge der auf die Probe einfallenden Quellenstrahlung;

$d$  = optischer Abstand (Weglänge der durch die Probe ausgesendeten Strahlung); und

$c$  = Konzentration der Lösung (verdünnte Komponente) in der Lösungsprobe.

Auch wenn die oben genannte Gleichung des Gesetzes von Beer-Lambert eine einfache Bestimmung von gelösten Konzentrationen ermöglicht, die bei in vito- oder anderen, diskreten Probensystemen außerhalb des Körpers, die für herkömmliche spektrophotometrische Proben verwendet werden, durchzuführen sind, ist eine solche direkte quantitative Messung in einem gesunden Körper nicht möglich, auch wenn die beeinflussende Strahlung in die Körperteile des Körpersystems, z.B. Knochen, Muskulatur, Organe usw. eindringen kann, da die Streuung bzw. Brechung der Strahlung auf ihrem Weg durch das Körpersystem sehr ausgeprägt und in hohem Maße bezüglich ihrer Eigenschaften veränderlich ist. Eine solche Streuung trägt nicht nur dazu bei, die erforderliche Information bezüglich der betreffenden Absorption mit einem unbekannten Strahlungsverlust zu belasten, sondern führt auch dazu, daß durch mehrfache Streuung die Weglänge der Photonen, die eventuell aus dem Körperteil austreten, in unbekannter Weise verlängert wird. Als Folge davon ist es bisher nicht möglich gewesen, bei einer in vivo-Messung die wirksame Weglänge  $d$  der einfallenden Strahlung zu bestimmen, bevor die daraus abgeleitete ausgesendete oder reflektierte Strahlung gemessen wird. Als Folge davon ist die absolute Quantifizierung von gelösten Konzentrationen in Körpersystemen erheblich beeinträchtigt.

Unter Berücksichtigung der Alternativen einer traumatischen Untersuchung der interessierenden Körperflüssigkeiten durch einen Eingriff oder spektrophotometrische Verfahren, mit denen nur eine qualitative oder im günstigsten Fall halb-quantitative Messung von Änderungen in Geweben oder von Lösungskonzentrationen in Körperflüssigkeiten möglich ist, ist ein wesentlicher Bedarf für ein eingriffsfreies in vivo-Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration eines

gelösten Stoffes in einem in einem Körper vorhandenen Körperflüssigkeits-Lösungsmittel erkennbar.

Ein ähnlicher Bedarf besteht auf zahlreichen anderen Gebieten, auf denen die absoluten Konzentrationen von verdünnten Komponenten in flüssigen Medien eine Charakterisierung des Flüssigkeitssystems wesentlich unterstützen würden. Ein Beispiel dafür ist die atmosphärische Überwachung des sauren Regens, d.h. der in der Luft vorhandenen sauren Verschmutzungen, die sich in den vergangenen Jahren wesentlich erhöht haben und erhebliche Schäden in der Biosphäre verursachen, einschließlich einer Entlaubung von Waldgebieten und eine Zerstörung natürlicher Gewässer und anderer Wasserläufe. Es wird erwartet, daß in den kommenden Jahren mit der zunehmenden Verschärfung des Problems des sauren Regens größere wissenschaftliche und gesetzgeberische Bemühungen auf die Überwachung des sauren Regens sowie eine Steuerung und Minimierung seiner nachteiligen Wirkungen gerichtet werden. Entsprechende Bestimmungen in natürlich vorkommenden Medien, wie zum Beispiel trübem Wasser und dunstiger Atmosphäre oder bewölktem Himmel wären von großem Vorteil für eine direkte, wirksame und schnelle Überwachung der Umwelt.

Bei zahlreichen anderen industriellen und natürlichen System besteht ein Bedarf nach einer quantitativen Überwachung von gelösten Stoffen in indirekter Weise, die nicht den bei einer diskreten Probensammlung, Reinigung und Analyse erforderlichen Zeitaufwand, sowie entsprechende Bemühungen und Kosten zur Folge hat.

In der US-PS 4.281.645 von F.F. Jobsis wird ein spektrophotometrisches System zur Überwachung von zellulären oxidativen Metaboliten durch eine eingriffsfreie in vivo-Messung von Änderungen des einge-

schwungenen Zustandes der Oxydation und Reduktion von zellulären Cytochromen, zusammen mit Änderungen des Blutvolumens, des Oxidationszustandes des Hämoglobins und der Rate des Blutflusses im Gehirn, Herz, in den Nieren, anderen Organen, sowie in den Gliedmaßen oder anderen Teilen des menschlichen oder tierischen Körpers offenbart.

Die in dem Patent von Jobsis beschriebene Methodologie umfaßt ein Aussenden von Strahlung im nahen Infrarotbereich mit mindestens zwei verschiedenen und periodisch wiederkehrenden Wellenlängen durch den Körper und eine Erfassung und Messung der Strahlungsintensität, die an einem anderen, beabstandeten Punkt oder an der gegenüberliegenden Seite des Körpers austritt, um unter Verwendung einer Näherung gemäß dem Gesetz von Beer-Lambert biochemische Reaktionen zu überwachen. Eine dieser für die Messungen ausgewählten Wellenlängen liegt in einem Bereich, in dem oxydierte Cytochrome  $a$ ,  $a_3$  selektiv in hohem Maße absorbierend sind. Bei entsprechenden Wellenlängen außerhalb der Spitze des Absorptionsbandes von Cytochromen, jedoch vorzugsweise mit geringem Abstand zu der Messwellenlänge, sind ein oder mehrere Bezugssignale vorgesehen. Die Differenz oder das Verhältnis zwischen den Mess- und Bezugssignalen wird ermittelt, wobei nichtspezifische Änderungen der Intensität der ausgesendeten Strahlung, die der Absorption durch die Cytochrom-Arten nicht zuzuschreiben sind, eliminiert werden. Mit dem System gemäß diesem Patent wird folglich ein Ausgangssignal erzeugt, das die Differenz oder ein Verhältnis zwischen der Absorption der gemessenen und der Bezugs-Wellenlängen bei einem Organ oder einem anderen Körperteilen als eine Funktion des Zustandes der metabolischen Aktivität in vivo darstellt, und das in ein Signal umgewandelt werden kann, das ein im wesentlichen kontinuierliches Maß



dieser Aktivität darstellt. Ein entsprechendes spektrophotometrisches Reflexionsgrad-Verfahren wird in der US-PS 4.223.680 von F.F. Jobsis beschrieben.

In der US-PS 4.655.225 von C. Dahne et al wird ein spektrophotometrisches System für eine eingriffsfreie Bestimmung der Glucosekonzentration in einem Körpergewebe beschrieben. Das System umfaßt die Bestrahlung eines äußeren Körperteils mit optischem Licht, dessen Transmissions- oder Reflexionsgrad bei ausgewählten Werten von Wellenlängenbändern des Glucose-Absorptionsspektrums sowie bei ausgewählten Werten eines Wellenlängenbandes des Absorptionsspektrums des Hintergrundgewebes, das keine oder nur unwesentliche Mengen von Glucose enthält, gemessen wird. Die erfaßte Meß- und Bezugsstrahlung wird dann in elektrische Signale umgewandelt und zur Bestimmung der Glucosekonzentrationen verwendet.

In der europäischen Patentanmeldung von Hundsgaard (Nr. 86.108.426.7, veröffentlicht am 04. April 1987 unter Nr. 0.210.417) werden ein Verfahren und eine Vorrichtung zur spektrophotometrischen Bestimmung der Konzentration einer Deoxyhämoglobins und einer Oxyhämoglobins oder von Parametern beschrieben, die aus der Konzentration von individuellen Hämoglobin-Derivaten abgeleitet werden. Das Verfahren beinhaltet das Aussenden von sichtbarem Licht zu dem untersuchten Blut, eine Bestimmung der durch das Blut auf das Licht bei einer Anzahl von unterschiedlichen Wellenlängen ausgeübten Modifikation, sowie eine Bestimmung der Konzentrationen (oder der abgeleiteten Parameter) auf der Basis der Modifikation des Lichtes bei den einzelnen Wellenlängen sowie auf der Basis von vorbestimmten Koeffizienten, die die Licht-Absorptionscharakteristiken jedes Hämoglobin-Derivates bei jeder Wellenlänge darstellen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein verbessertes Verfahren sowie eine Vorrichtung zur indirekten quantitativen spektrophotometrischen Bestimmung der Mengen (Anteile) einer verdünnten Komponente durch Verwendung einer Bezugskomponente in einem interessierenden Medium (Umgebung) zu schaffen.

Ferner liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein solches Verfahren für eine eingriffsfreie, quantitative in vivo-Bestimmung der Konzentration einer verdünnten gelösten Komponente in einer Körperlösung zu schaffen.

Weitere Aufgaben und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung sowie den Ansprüchen.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Bestimmen der wahren Konzentration (z.B. in den Einheiten von Gramm oder Mol einer verdünnten Komponente pro Volumen einer Bezugskomponente) in einem Medium (Umgebung), in dem die optische Weglänge aufgrund des ausgeprägten Auftretens von Streuungen der einfallenden Strahlung unbestimmt ist, so wie es bei einer atmosphärischen Überwachung über eine sehr große Länge, bei intensiveren, lichtstreuenden Medien während der Durchleuchtung, sowie bei diffusen Reflexionsgrad-Betriebsarten in der Spektrophotometrie der Fall ist.

Der hier verwendete Begriff "Umgebung" (Medium) bezieht sich auf einen ausgewählten räumlichen Bereich, in dem die gerichtete und gemessene Strahlung entlang im wesentlichen des gleichen Weges ausgesendet und/oder reflektiert wird.

Der Kern der Erfindung besteht darin, die ausgesendete und/oder reflektierte Strahlung sowohl für die verdünnte Komponente unbekannter Konzentration, als auch für die

Bezugskomponente mit bekannter Konzentration, mit der diese verbunden ist, zu messen. Mehrfache Streuungen beeinträchtigen die Parameter der optischen Weglänge in der Gleichung von Beer-Lambert, wobei dieser Einfluß in Abhängigkeit von der Wellenlänge in unterschiedlichem Ausmaß auftritt. Es ist deshalb erforderlich, die verdünnte und die Bezugskomponente in im wesentlichen dem gleichen Spektralbereich zu messen. Durch die Messung der Intensität der Lichtabsorption und/oder Reflexion durch die zwei Arten von Molekülen, der verdünnten Komponente und der Bezugskomponente, in der Umgebung, sowie durch jeweiliges Anwenden der Extinctionskoeffizienten wird jeweils die Möglichkeit geschaffen, diese zueinander im Hinblick auf ihre relativen Mengen (Anteile) in Beziehung zu setzen, die als wesentliches Kennzeichen der Konzentration angesehen wird. Somit kann durch Absorptions- (und/oder Reflexionsgrad-) Messungen und in Kenntnis der Extinctionskoeffizienten die Menge der verdünnten Komponente in dem Lichtweg und die Menge der Bezugskomponente, mit der diese verbunden ist und die in ähnlicher Weise bei einer oder mehreren anderen, nahe benachbarten Wellenlängen bestimmt wurde, zur Berechnung der Konzentration der verdünnten Komponente relativ zu der Bezugskomponente verwendet werden.

In einem System, in dem die Bezugskomponente in bekannter Konzentration vorhanden ist, kann die scheinbare Weglänge mit Absorptionsmessungen bestimmt werden, die in dem Medium mit unbekannter Weglänge in dem gleichen elektromagnetischen Spektralbereich vorgenommen wurden. Die Differenz zwischen den sich ergebenden Absorptionswerten wird aus dem differenziellen Absorptionsgrad in dem Medium berechnet, dessen Weglänge zu bestimmen ist. Die verzeichneten oder vorher bestimmten Werte der Extinctionskoeffizienten der reinen Bezugskomponente bei diesen Wellenlängen werden dann zur Berechnung des

...

differenziellen Extinctionskoeffizienten als Differenz zwischen den Werten der entsprechenden Extinctionskoeffizienten verwendet. Wenn der differenzielle Absorptionsgrad dann durch den differenziellen Extinctionskoeffizienten dividiert wird, ergibt sich als Ergebnis die scheinbare wirksame Weglänge des Mediums. Wenn der Abstand zwischen dem Sender und dem Empfänger der elektromagnetischen Strahlung gemessen wird, wird der den Weg verlängernde Faktor für das System als Verhältnis zwischen der scheinbaren wirksamen Wellenlänge und dem tatsächlichen Abstand zwischen dem Sender und dem Detektor bestimmt.

Unter einem ersten Gesichtspunkt betrifft die Erfindung somit ein spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration mindestens einer ersten verdünnten Komponente in einem Körperteil, das die verdünnte Komponente oder Komponenten mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration enthält, mit folgenden Verfahrensschritten:

(a) Verwenden von Wasser als eine Bezugskomponente der bekannten Konzentration, Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung mit einer ersten Wellenlänge im nahen Infrarotbereich in einem ausgewählten Spektralbereich, bei dem Wasser eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung zeigt,

(b) Messen der Strahlung mit der ersten Wellenlänge, die von dem Körperteil abgegeben und/oder reflektiert wird,

(c) Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung mit mindestens einer anderen Wellenlänge in dem ausgewählten Spektralbereich, bei der die verdünnte Komponente oder die Komponenten eine Absorption mit einer unterschiedlichen relativen Intensität oder Intensitäten gegenüber der einfallenden Strahlung mit

der ersten Wellenlänge zeigt/zeigen, wobei die Anzahl der Wellenlängen der verwendeten einfallenden Strahlung um mindestens den Wert 1 größer ist, als die Anzahl von Bezugs- und verdünnten Komponenten,

(d) Messen der anderen Wellenlängen der von dem Körperteil abgegebenen und/oder reflektierten Strahlung,

(e) Verwenden der Werte der Löschungskoeffizienten (Extinctionskoeffizienten) für jede Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen, die in entsprechenden Körperteilen bestimmt wurden,

(f) Ableiten einer Gleichung für die Absorption bei jeder Wellenlänge als Summe der relativen Absorptionen jeder Komponente bei der Wellenlänge plus einer Streuung, wodurch eine Matrix von Gleichungen geschaffen wird, die nach der Konzentration für jede Komponente aufgelöst werden können,

(g) Bestimmen der scheinbaren effektiven Weglänge in dem Körperteil durch Dividieren der Absorption des Wassers durch das Produkt aus dem bekannten Löschungskoeffizienten für Wasser mal der bekannten Konzentration des Wassers, und

(h) Bestimmen der relativen Menge der verdünnten Komponente zu der Menge der Bezugskomponente als Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil auf der Basis der scheinbaren effektiven, für den Körperteil bestimmten Weglänge sowie unter Verwendung der Werte der Löschungskoeffizienten für jede verdünnte Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen und der gemessenen absorbierten und/oder reflektierten Strahlung bei den Wellenlängen, durch Dividieren der Absorption/Reflektion

von jeder Komponente durch die Weglänge mal dem Lösungskoeffizienten für diese Komponente.

Unter diesem erfindungsgemäßen Gesichtspunkt zur quantitativen Bestimmung der Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil, das diese in Kombination mit Wasser (mit bekannter Konzentration) enthält, werden die verschiedenen, die Strahlung richtenden und messenden Schritte bei den verschiedenen ausgewählten Wellenlängen gleichzeitig zur Bestimmung der Konzentration der verdünnten Komponente ausgeführt. Es hat sich jedoch herausgestellt, daß es bei vielen interessanten Systemen, insbesondere Körpermedien wünschenswert sein kann, die Konzentration der verdünnten Komponente durch eine solche gleichzeitige Ausrichtung und Messung der Strahlung zu ermitteln, und daß es nach einer solchen Bestimmung vorteilhaft sein kann, das System für eine bestimmte Zeitdauer entweder mit getrennten Intervallen oder auf kontinuierlicher Basis zu überwachen.

Ein weiterer Gesichtspunkt betrifft somit eine Vorrichtung zur spektrophotometrischen quantitativen Bestimmung der Konzentration von mindestens einer ersten verdünnten Komponente in einem Körperteil, der die verdünnte Komponente oder Komponenten mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration enthält, mit:

(a) Einrichtungen zur Erzeugung einer elektromagnetischen Strahlung mit bekannten Wellenlängen in dem nahen Infrarotbereich, sowie Richten der Strahlung in das im Hinblick auf die verdünnte Komponente oder die Komponenten zu charakterisierende Körperteil,

(b) Einrichtungen zur Detektion elektromagnetischer Strahlung, die von dem Körperteil ausgeht und/oder von diesem reflektiert wird, sowie zur Erzeugung eines damit korrespondierenden elektrischen Signals,

(c) Einrichtungen zum Empfang des elektrischen Signals und zur Erzeugung von elektrischen Signalen daraus, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen,

(d) einem Berechnungsmodul zur Aufnahme der elektrischen Signale, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen, sowie zum Aufstellen von Absorptionsgleichungen, die von den elektrischen Signalen abhängig sind, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen, wobei die Absorption bei jeder Wellenlänge als Funktion der relativen Intensitäten der Absorptionsverteilungen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser, sowie den Konzentrationen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser ausgedrückt und die Mengen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser durch Auflösen der Absorptionsgleichungen berechnet werden, wobei jede dieser Gleichungen als eine Summe der relativen Absorption jeder verdünnten Komponente oder Wasser bei der betreffenden Wellenlänge plus einer Streuung definiert ist, und

(e) Einrichtungen zur Anzeige der berechneten Konzentrationen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser, wobei die Vorrichtung so konfiguriert ist, daß

(g) die scheinbare wirksame Weglänge in dem Körperteil durch Dividieren der Absorption des Wassers durch das Produkt aus den bekannten Lösungskoeffizienten für Wasser mal der bekannten Konzentration von Wasser bestimmt wird und

(h) die relative Menge der verdünnten Komponente zu der Menge der Bezugskomponente als Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil auf der Basis der scheinbaren wirksamen, für den Körperteil bestimmten Weglänge und unter Verwendung der Werte der Lösungskoeffizienten für jede verdünnte Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen und der gemessenen absorbierten und/oder reflektierten Strahlung bei diesen Wellenlängen durch Dividieren der Absorption/Reflektion jeder Komponente durch die Weglänge mal dem Lösungskoeffizienten für diese Komponente bestimmt wird.

Im allgemeinen ist die Anzahl von Wellenlängen, die zur Bestimmung der Konzentration der verdünnten Komponente(n) in dem System verwendet wird, gleich der Anzahl von absorbierenden Stoffen (d.h. der Anzahl von verdünnten Komponenten und der Bezugskomponente Wasser). Wenn das Medium eine flache, nicht spezifische Basislinie der Hintergrundstreuung aufgrund einer Wellenlängen-unabhängigen Streuung zeigt, muß eine zusätzliche Wellenlänge hinzugefügt werden. In dem Fall, in dem die Basislinie linear abfällt, müssen zwei zusätzliche Wellenlängen angewendet werden, während in dem Fall, in dem die Streuung in nichtlinearer Weise wellenlängenabhängig ist, eine Anzahl von zusätzlichen Wellenlängen erforderlich ist, um die Krümmung der Basislinie zu korrigieren, wobei mit zunehmenden Wellenlängenbestimmungen die Genauigkeit der ermittelten Konzentrationen gesteigert wird.

Unter einem anderen Gesichtspunkt der Erfindung kann in den Fällen, in denen in dem spektralen Bereichen, in dem die ausgewählte verdünnte Komponente (d.h. diejenige verdünnte Komponente, deren Konzentration gesucht wird) ihr Absorptionsspektrum aufweist, ein Absorptionsband der Bezugskomponente nicht vorhanden ist, jedoch dieser



spektrale Bereich ein Band einer zweiten verdünnten Komponente enthält, und ein relativ gering beabstandeter, naher spektraler Bereich vorhanden ist, in dem die Bezugskomponente und die zweite verdünnte Komponente eine Absorption zeigen, die Konzentration der zweiten verdünnten Komponente bestimmt und als überbrückende Referenz zur Bestimmung der Konzentration der ausgewählten verdünnten Komponente verwendet werden, indem die ausgewählte verdünnte Komponente gegen die zweite verdünnte Komponente kalibriert wird.

Die Anwendungen der Erfindung erstrecken sich auf das gesamte Gebiet der analytischen Chemie, bei der eine spektrophotometrische Einrichtung zur Bestimmung von Konzentrationen in Umgebungen mit Stahlungsbrechung (Streuung) angewendet wird. Ein besonderer Schwerpunkt soll in der folgenden Beschreibung auf Anwendungen gelegt werden, die das biomedizinische Gebiet der eingriffsfreien Überwachung von Metaboliten betrifft.

Eine dieser biomedizinischen Anwendungen ist die Bestimmung des Oxydations-Reduktionszustandes von Enzymen und des Ausmaßes des Oxygenierung des Blutes, das durch die aktiv metabolisierenden festen Organe wie zum Beispiel das Gehirn, die Skelettmuskeln, die Leber usw. fließt. Wenn diese Organe für eine wirksame Durchleuchtung zu groß sind, wird ein optische Reflexionsgrad-Verfahren angewendet. Mit solchen Messungen erhält man dringend erforderliche diagnostische Informationen über das Ausmaß und die Angemessenheit der Sauerstoffzufuhr und der Sauerstoffausnutzung durch lebenswichtige Organe zu jedem Zeitpunkt und auf einer fortlaufenden Grundlage.

Eine zweite bevorzugte Anwendung unter Verwendung einer Durchleuchtungs-Betriebsart ist die Messung des

Hämoglobingehaltes im Blut durch eine quantitative Bestimmung des Hämoglobin- und Wassergehaltes des pulsierend ansteigenden Blutgehaltes in einem Finger oder Ohrläppchen, wenn dieses mit jedem Herzschlag pulsiert. In ähnlicher Weise können auch andere, im Blut vorhandene Bestandteile (z.B. Glucose, Lipide, Cholesterien, Kohlendioxyd usw.) gemessen werden, die im unsichtbaren, im infraroten oder in anderen Teilen des elektromagnetischen Spektrums Absorptionseigenschaften aufweisen.

Die bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung sind in den Ansprüchen 2 bis 11 und 13 bis 15 genannt. In den Zeichnungen zeigt:

Figur 1 eine Darstellung des Absorptionsspektrums einer reinen Wasserkomponente,

Figur 2 eine Darstellung des Absorptionsspektrums von Wasser in einer Umgebung (Medium), das eine flache Basislinie B zeigt, die mit einer Strahlungsstreuung (Brechung) verbunden ist,

Figur 3 eine Darstellung der Absorptionsspektren von Wasser, Hämoglobin und Oxyhämoglobin mit einer ersten Basislinie, die einer Strahlungsstreuung durch die Umgebung zuzuschreiben ist,

Figur 4 eine Darstellung der Absorptionsspektren von Wasser, Hämoglobin und Oxyhämoglobin mit einer linear geneigten Basislinie für eine wellenlängenabhängige Strahlungsstreuung in der Umgebung,

Figur 5 eine Darstellung der Absorptionsspektren von Wasser, Hämoglobin und Oxyhämoglobin mit einer gekrümmten Basislinie aufgrund einer

wellenlängenabhängigen Strahlungsstreuung in der Umgebung,

Figur 6 eine Darstellung der Absorptionsspektren von Wasser, Hämoglobin, Oxyhämoglobin und Cytochrom  $a$ ,  $a_3$  über dem nahen Infrarotbereich von etwa 700 bis etwa 1.400 nm, in der sechs Wellenlängenwerte (mit Pfeilen bezeichnet) dargestellt sind, bei denen bei einem dargestellten System die Absorptionsmessungen vorgenommen werden,

Figur 7 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung bzw. eines Systems für eine in vivo-Bestimmung von absorbierenden Stoffen in einem menschlichen Finger unter Verwendung einer Transmission, und

Figur 8 eine schematische Darstellung einer Reflexionsgrad-Betriebsart unter Verwendung einer Vorrichtung, die im allgemeinen von gleicher Art ist, wie die in Figur 7 gezeigte, und zwar in einem relativ dichten Körperorgan, wie zum Beispiel dem Kopf eines Erwachsenen.

Mit der Erfindung werden nicht nur die Nachteile der bekannten Infrarot-Überwachungsverfahren beseitigt, sondern es wird allgemein ein Verfahren geschaffen, mit dem die Konzentration eines spektrophotometrisch-absorbierenden Materials unter Bedingungen ermittelt wird, bei denen die Weglänge des Lichtstrahls unbekannt ist. Diese Unsicherheit besteht in jedem lichtstreuenden Medium, sei es eine Flüssigkeit, ein Feststoff oder eine Gasmischung, in der mehrfache Streuungen bzw. Brechungen die geometrisch messbare optische Weglänge verlängern. Mit der Erfindung wird dieses Problem der undefinierten

Weglängen in Medien, die selbst lichtabsorbierende Eigenschaften in dem Spektralbereich der elektromagnetischen Strahlung des Wellenlängenbereiches aufweisen, in dem das Material, dessen Konzentration zu bestimmen, die Strahlung absorbiert, überwunden.

Das Gesetz von Beer-Lambert bildet die Grundlage der spektrophotometrischen Bestimmungen der Konzentrationen von strahlungsabsorbierenden Stoffen. Es sagt aus, daß die Absorption von Licht (oder von anderer Strahlung) von genau zwei Bedingungen abhängig ist: von der Wirksamkeit der Moleküle oder Atome, mit der Licht absorbiert wird, sowie der Anzahl von solchen Molekülen oder Atomen in dem Lichtweg. Zwei Gesichtspunkte sollten unbedingt beachtet werden. Die Wirkung bzw. Wirksamkeit der Strahlungsabsorption variiert bei unterschiedlichen Wellenlängen, so daß es notwendig ist, ein schmales, "monochromatisches" Lichtband zu verwenden und die Wirksamkeit anzugeben, mit der das Material das Licht absorbiert. Dieser Parameter wird als "Extinctionskoeffizient" (Löschungskoeffizient) bezeichnet. Der andere Gesichtspunkt ist in die Konsequenz, daß in dem Fall, in dem die Länge des Lichtweges durch die ausgewählte Probe oder Mischung bekannt ist, die einzige Variable, die die Anzahl von Molekülen oder Atomen in der Lösung oder Mischung bestimmt, die Konzentration ist. Das gesamte Gebiet der quantitativen Analyse unter Verwendung von "bench-top"-Spektrometern bedient sich dieser Tatsache durch die Verwendung von spektrophotometrischen Gefäßen ("Küvetten") mit bekannten Abmessungen der Weglänge. Bei einer solchen Analyse sind natürlich klare Lösungen oder Gasmischungen erforderlich, um eine Verlängerung der optischen Weglänge durch mehrfache Lichtstreuungen zu vermeiden. Streuungs- und Brechungsmedien werden auch deshalb so weit wie möglich vermieden, da der durch die Streuung verursachte

Lichtverlust die Bestimmung des Lichtverlustes durch Absorption erschwert. Zur Verminderung der Fehler aufgrund einer geringfügigen Streuung, durch die Lichtverluste auftreten können, bei der jedoch die Verlängerung des Weges noch vernachlässigbar ist, wurde eine differenzielle Spektrophotometrie entwickelt. Dieses Verfahren bedient sich entweder zweier nahe beabstandeter monochromatischer Wellenlängen mit unterschiedlichen Absorptionskoeffizienten, oder zweier Proben mit gleichen Licht-Streueigenschaften, von denen eine jedoch das zu bestimmende absorbierende Material nicht enthält. Es soll jedoch darauf hingewiesen werden, daß diese zwei bekannten Ansätze mit differenzieller Spektrophotometrie nicht geeignet sind, eine durch Streuung verursachte optische Wegverlängerung zu korrigieren.

Das Gesetz von Beer-Lambert besagt für Lösungen, daß der Logarithmus des Bruchs des durch das aufgelöste Material (die Lösung) absorbierten Lichtes gleich dem molaren Extinctionskoeffizienten (E) der Lösung mal der Konzentration (c) mal der Weglänge (d) ist, oder, aufgelöst nach der unbekannten Konzentration:

$$c = \frac{1}{E} \times \frac{1}{d} \times \log \frac{I_0}{I}$$

Die Größe " $\log I_0/I$ " wird Absorptionsgrad (früher optische Dichte) genannt. In diesen Gleichungen ist  $I_0$  die ursprüngliche Intensität des Lichtes ohne absorbierenden Stoff und I die Intensität des Lichtes, nachdem der Strahl die Lösung durchquert hat. In der Praxis bezeichnet die Intensität  $I_0$  das Licht, das auf den Detektor des Spektrophotometers fällt, nachdem es eine Küvette mit reinem Lösungsmittel durchquert hat. Das auf diese Weise erhaltene Signal wird mit  $I_0$

bezeichnet, während das Signal, das mit einer identischen Küvette mit der Lösung mit unbekannter Konzentration erhalten wird, mit I bezeichnet wird.

Der Extinctionskoeffizient wird im allgemein in Form des Ausmaßes der Absorption angegeben, die über eine Weglänge von 1 cm durch eine einmolare Lösung (ein Molekulargewicht des Lösungsmittels, das in einem Liter der Lösung vorhanden ist) erzeugt wird. Die Werte der molaren Extinctionskoeffizienten werden im allgemeinen in Tabellen veröffentlicht und sind üblicherweise für Wellenlänge mit maximaler Absorption angegeben.

Die Durchleuchtung eines Materials mit ausgeprägten lichtstreuenden Eigenschaften führt zu einem erheblichen Anteil von auf den Detektor einfallenden Photonen, die über zahlreiche Umwege gelaufen sind, die den durchquerten Abstand über die direkte geometrische Länge der Probe hinaus vergrößert haben. Bei der extremsten Betriebsart, nämlich der Reflexionsgrad-Spektrophotometrie, werden die Absorptionsgrad-Spektren unter Verwendung derjenigen Photonen erzeugt, die entweder schräg (im allgemeinen mit einem Beobachtungswinkel von  $90^\circ$ ) aus der Probe herausgestreut oder zurückgestreut (Beobachtung an der gleichen Fläche) werden. In diesem Fall ist nicht nur die Weglänge unbekannt, sondern sie ist insbesondere in dem Fall der Beobachtung an der gleichen Fläche undefiniert. Die mittlere Eintrittstiefe, die vor einer Rückstreuung erreicht wird, ist nur sehr schwierig oder überhaupt nicht zu bestimmen. In jedem Fall ist die wirksame Weglänge unbekannt, so daß Konzentrationen mit dem Gesetz von Beer-Lambert nicht bestimmt werden können.

Mit der Erfindung wird ein vollständig neuer Ansatz zur Bestimmung von Konzentrationen in verschiedenen Medien -

...

Lösungen, Gasmischungen und Feststoffen - gewählt, mit dem keine Aussage über die Weglänge gemacht wird, sondern mit dem gleichzeitig die Menge des durchquerten Mediums gemessen wird. Bei Lösungen erhält man somit mit diesem Verfahren eine Aussage bezüglich der Menge des durchlaufenen Lösungsmittels. Aus diesem Parameter sowie der Stärke der Absorption durch die Lösung kann die Konzentration der Lösung abgeleitet werden. Eine Voraussetzung dafür ist, daß die Absorptionsbänder bei relativ nahe beabstandeten Wellenlängen auftreten, wobei die Streuung insbesondere in den sichtbaren und ultravioletten Wellenlängenbereichen des Spektrums wellenabhängig ist.

Figur 1 zeigt das Absorptionsspektrum einer reinen Wasserkomponente über einem ausgewählten Spektralbereich in dem Wellenlängenbereich von näherungsweise 900 bis 1100 nm. In einer nichtstreuenden Umgebung (Medium), die nur die Bezugskomponente enthält, kann die Konzentration dieser Komponente durch eine übliche bench top-Spektrophotometrie bestimmt werden, wenn die Weglänge bekannt ist. Im umgekehrten Fall kann, wenn die Konzentration bekannt und die Weglänge unbekannt ist, letztere berechnet werden, was sich ohne weiteres aus dem Gesetz von Beer-Lambert ergibt.

Die absorbierende Komponente in Figur 1 kann entweder ein Indikator oder das Lösungsmittel selbst sein. Zur Vereinfachung des Verständnisses ist es lehrreich, wenn die absorbierende Komponente als Indikator angesehen wird. Ein solcher Indikator muß mit einer bekannten Konzentration vorhanden sein. Wenn eine geeignete Indikatorkomponente in dem Spektralbereich des Experimentes fehlt, kann ein geeigneter Indikator, der in dem interessierenden Spektralbereich absorbierend ist, der Lösung mit einer bekannten Konzentration

zugesetzt werden. Ferner muß der molare Extinctionskoeffizient des Indikators pro Zentimeter Weglänge bei der gemessenen Wellenlänge bekannt sein. Die Intensität der gemessenen Absorptionsspitze zeigt dann die Länge des optischen Weges an. Dieses Indikatorverfahren ist natürlich selbst nicht gut zur in vivo-Überwachung geeignet, auch wenn es in der bench top-Spektrophotometrie nützlich ist. In diesem Fall führt jedoch die Tatsache, daß in biologischen Geweben Wasser allgegenwärtig, dazu, daß Wasser als Indikator ausgewählt wird, ebenso wie bei atmosphärischen Anwendungen Stickstoffgas dieses Erfordernis erfüllen kann.

Es ist wichtig hervorzuheben, daß es möglich ist, Wasser in Einheiten seiner eigenen Konzentration anzugeben, was dann zu einem Fall führt, der formal identisch mit dem oben angegebenen Indikatorfall ist. Konzentrationen werden häufig entweder in Gramm pro Liter oder genauer in den Einheiten der Molarität, d.h. Mol Pro Liter Lösung angegeben, was Gramm/Molekulargewicht pro Liter bedeutet. Da 1 Liter Wasser ein Gewicht von 1000 Gramm hat und sein Molekulargewicht 18 ist, existiert reines Wasser in Form einer  $1000/18 = 55,6$  molaren "Lösung". Wasser ist somit ein Indikator, der mit einer bekannten Konzentration vorhanden ist. Im Hinblick auf die obigen Erläuterungen soll jedoch zu Klarstellung betont werden, daß für den speziellen Fall von Wasser oder irgendeines anderen, spektrophotometrisch meßbaren Lösungsmittels in dem Fall, in dem es bekannt ist, daß eine mit reinem Wasser gefüllte Küvette mit 1 cm einen Absorptionsgrad von 0,5 (angenommener Wert) bei einer gegebenen Wellenlänge zeigt, ein Absorptionsgrad von 6,0, der sich bei der gleichen Wellenlänge über eine unbekannte Weglänge ergibt, bedeutet, daß diese Weglänge etwa 12 cm betragen muß.



Bei diesen Erläuterungen ist auch zu berücksichtigen, daß die gelösten Moleküle die Wassermoleküle in einem gewissen Ausmaß versetzen und dadurch ihre Konzentration in der Lösung im Vergleich zu ihrer eigenen Konzentration in reinem Wasser herabsetzen. Dieser Effekt ist jedoch bei den verdünnten Lösungen, denen man in den meisten Fällen begegnet, sehr klein. Die am höchsten konzentrierte Salzkomponente des Blutes (NaCl) erzeugt zum Beispiel einen Volumenanstieg von weniger als 2,6 ml, wenn sie in 1 Liter Wasser aufgelöst wird. Der Wasserinhalt (Gehalt) der sich ergebenden "physiologischen Salzlösung" wird somit um weniger als 0,26 % gesenkt. Die dadurch hervorgerufenen Fehler sind wesentlich kleiner, als jegliche Unsicherheiten, die mit dieser oder jeder anderen spektrophotometrischen Methodologie verbunden sind.

Der parallele Parameter für die makromolekularen und sogenannten "geformten" Komponenten von Geweben wird jedoch am besten zu Einheiten des Wassergehaltes reduziert. Bei weichen Geweben liegt der Wassergehalt im allgemeinen bei 85 %. Eine Korrektur von etwa 15 bis 20 % ist wesentlich und kann in solchen Fällen angewendet werden. In diesem Fall würden die ermittelten Konzentrationen in Einheiten der gesamten Gewebemasse vorliegen. Dies kann jedoch im Falle einer Wiedergabe in Einheiten des Gesamtgewebe-Wassers ungünstig sein, das sich ergeben würden, wenn die Korrektur von 15 bis 20 % nicht angewendet wird. Es soll hier noch erwähnt werden, daß ein identischer Ansatz zur Analyse von Gasgemischungen anwendbar ist, die eine Lichtstreuung wie bei Dunst, Dampf oder Wolken zeigen. Bei vielen atmosphärischen Anwendungen kann Stickstoffgas als Bezugskomponente mit bekannter Konzentration von etwa 79 % dienen. Die Höhe oder Änderungen des barometrischen Drucks beeinträchtigen nicht diesen Nutzen, da der Stickstoff-Prozentsatz

...

der gleiche bleibt und eine Verschmutzung stets in Einheiten von Prozent, Promille oder ppm (part per million) bestimmt werden kann.

Die obigen Beispiele, die sich auf Figur 1 beziehen, basieren auf absolut klaren, d.h. nichtstreuenden Lösungen oder Mischungen, die die Anwendung einer einzigen Wellenlänge ermöglichen. Wenn eine Streuung auftritt, muß für die Lichtverluste, die nicht auf einer Absorption beruhen, sowie für Wegverlängerungen, die auf mehrfachen Streuungen beruhen, eine Korrektur vorgenommen werden. Wenn mehrere Komponenten einander überlappende Absorptionsspektren erzeugen, führt dies zu einer erhöhten Komplexität. In den folgenden vier Fällen sollen Lichtstreuungen und Absorptionsfälle mit zunehmender Komplexität analysiert werden.

In Figur 2 ist der Fall einer Wellenlängen-unabhängigen Streuung dargestellt. Ein über den relevanten Bereich des Spektrums gleicher Lichtverlust bewirkt eine "Basislinienverschiebung" (dargestellt durch die Linie B in Figur 2), die sich zu dem Spektrum des zu bestimmenden Materials (in diesem Beispiel Wasser) hinzuaddiert. Ein differenzieller Ansatz mit zwei Wellenlängen ist nur als erster, minimaler Schritt zur Handhabung dieses Problems angezeigt. Dies hat zwei subtrahierte Signale bei zwei Wellenlängen ( $\lambda_1$  und  $\lambda_2$ ) zur Folge, wodurch der durch die Streuung verursachte Lichtverlust eliminiert wird.

Für das Spektrum von Wasser kann in dem Wellenlängenbereich zwischen 900 und 1100 nm der Extinktionskoeffizient von Wasser bei zwei Punkten entlang des Wellenlängenbereiches, z.B. bei 980 und 1100 nm leicht ermittelt oder entsprechenden Tabellen für die reine Wasserkomponente entnommen werden. Die Differenz zwischen den beobachteten Werten des Absorptionsgrades

bei diesen entsprechenden Wellenlängen ist ein Maß entweder der Wassermenge, auf die der Photonenstrom entlang seines optischen Weges stößt, oder in dem Fall einer verdünnten Lösung (d.h. einer Lösung, bei der die Wasserkonzentration bei näherungsweise 55,6 Molar bleibt) ein Maß für die Weglänge. Wenn somit der tatsächliche differenzielle Absorptionsgrad, d.h. die Differenz zwischen den Absorptionswerten bei den Wellenlängenwerten von 980 und 1100 nm, bestimmt wird, kann die effektive Weglänge des Testsystems durch Dividieren des gemessenen differenziellen Absorptionsgrades durch die differenziellen Absorptionswerte zwischen 980 und 1100 nm für 1 cm Wasser hergeleitet werden.

Figur 2 zeigt zum Beispiel das Absorptionsspektrum für Wasser (Kurve A) in dem spektralen Bereich zwischen etwa 900 und etwa 110 nm, mit einer flachen Basislinie, die einer Streuung in der Umgebung (Medium) zuzurechnen ist (Basislinie B). Die Kurve zeigt eine Spitze des Absorptionsspektrums für Wasser (Kurve A) bei einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$ , sowie ein Minimum des Spektrums bei einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$ . Die Differenz der Absorption bei Wasser bei den entsprechenden Werten von  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  wird durch die Menge  $A_1 - A_2$  als unterschiedliche Absorption (differenzielle Absorption) in einer Umgebung angegeben, die eine flache Basislinie erzeugende Hintergrundstreuung zeigt. Die Subtraktion von Absorptionssignalen bei benachbarten Wellenlängenwerten in dieser Weise, bei der sich die bekannte Komponente im Hinblick auf ihren Absorptionsgrad bei den entsprechenden Wellenlängen wesentlich unterscheidet, beziffert sich auf eine Subtraktion einer aufgrund der Streuung vorhandenen, Wellenlängen-unabhängigen Basislinie des Verlustes. Die Größe des übrig bleibenden Wertes von  $A_1 - A_2$  stellt ein Maß für die effektive Weglänge dar. Die Bestimmung der Konzentration von anderen absorbierenden

Komponenten, die in Wasser aufgelöst sind, sowie ihre Wirkung auf die Messung des Wassers, ist bisher noch nicht erläutert worden.

Figur 3 zeigt Absorptionsspektren für Wasser (Kurve A), Oxyhämoglobin (Kurve C) und Deoxyhämoglobin (Kurve D) gegenüber einer flachen Basislinie (Kurve B), die auf den Streuverlusten in dem System beruhen. Die Herleitung der effektiven Weglänge durch die Probe des in Figur 3 gezeigten Systems ist wesentlich komplexer, da in dem spektralen Bereich, der zur Bestimmung der Menge des "bekannten" oder "Bezugsmaterials" (d.h. des Wassers) benötigt wird, andere Absorptionskurven auftreten. Für drei absorbierende Stoffe (Wasser, Hämoglobin und Oxyhämoglobin) ist ein Minimum von drei Wellenlängen erforderlich, um drei Absorptionsgrad-Gleichungen oder "Algorithmen" zu formulieren und nach den unbekannten Größen, d.h. den Beiträgen der drei absorbierenden Stoffe, aufzulösen. Wenn eine flache, nicht spezifische Basislinie vorhanden ist (aufgrund einer Wellenlängen-unabhängigen Streuung gemäß der Darstellung), muß eine vierte Wellenlänge hinzugefügt werden, um vier Gleichungen aufstellen und diese nach den vier unbekannten Beiträgen auflösen zu können. Durch das Auflösen dieser vier Gleichungen werden Informationen im Hinblick auf die Menge jedes betroffenen Materials erlangt. Die bekannte Konzentration von Wasser (55,6 Molar) ermöglicht die Berechnung der Weglänge, die durchlaufen worden sein muß, so daß die Konzentration der anderen Komponenten berechnet werden kann. In vereinfachter Weise kann dies auch durch Berechnen der scheinbaren effektiven Wehlänge aus dem Signal des Wassers und durch Herleiten der Konzentration des oder der gelösten Mittel in dieser Weise erfolgen.

Eine ähnliche Art von Komplexität wird durch eine Streuung verursacht, deren Intensität sich als Funktion der Wellenlängen in dem betrachteten Spektralbereich ändert. Figur 4 zeigt Kurven der Absorptionsspektren von Wasser (Kurve A), von Oxyhämoglobin (Kurve C) und Deoxyhämoglobin (Kurve D) gegenüber einer linearen abfallenden Basislinie (Kurve B). Bei Absorptionssystemen dieser Art muß eine fünfte Wellenlänge in die Absorptionsgrad-Beziehungen eingeführt werden, um den Grad der Steilheit der Neigung zu bestimmen.

Bei System der in Figur 5 gezeigten Art, in der die Kurven für Wasser, Oxyhämoglobin, Deoxyhämoglobin sowie die Basislinie mit den Buchstaben A, C, D bzw. B bezeichnet sind und bei der die Basislinie eine Streuung mit kurvenlinearem, Wellenlängen-abhängigem Charakter zeigt, sind eine Anzahl von zusätzlichen Wellenlängen erforderlich, um die Krümmung der Basislinie zu korrigieren. Je höher der Genauigkeitsgrad für die berechneten Konzentrationen sein muß, desto größer muß auch die Anzahl von zu verwendenden Wellenlängenbestimmungen sein.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist insbesondere zur Bestimmung der Konzentrationen von Blutbestandteilen, wie zum Beispiel des oben genannten Hämoglobins und Oxyhämoglobins in Extremitäten des Körpers geeignet, die eine Durchleuchtung ermöglichen, d.h. bei denen eine Strahlungsquelle auf das Körperteil gerichtet und die Strahlung an einem anderen äußeren Bereich dieses Körperteils empfangen werden kann. Diese Methodik ist bei Körperteilen, wie zum Beispiel Fingern, Zehen, Ohrläppchen und anderen Organen einschließlich des Kopfes eines Kindes anwendbar. Alternativ dazu kann an Teilen des Körpers, bei denen eine Durchleuchtung aufgrund ihrer Masse und ihrer optischen Dichte nicht

durchführbar ist, z.B. dem Kopf eines Erwachsenen, Lungen, Nieren usw.; eine Reflexionsgrad-Spektrophotometrie angewendet werden.

In Figur 6 sind die Spektren von Wasser (Kurve 1), Hämoglobin (Kurve 2) und Oxyhämoglobin (Kurve 3) im nahen infraroten Spektrum in einem Bereich zwischen etwa 700 und 1400 nm gezeigt. Ferner ist die Absorptionskurve von Cytochrom  $a, a_3$  dargestellt, die später erläutert werden soll. Diese Spektren wurden mit einer bench top-Spektrophotometrie durch eine Durchleuchtung ermittelt. Das Wasserspektrum ist das sogenannte absolute Spektrum, das mit einer mit Wasser gefüllten Küvette ermittelt wird, wobei einer leere Küvette zur Bestimmung von  $I_0$  bei jeder Wellenlänge als "Leerprobe" verwendet wird. Die anderen Spektren stammen von Hämoglobin- und Oxyhämoglobin-Verbindungen, die jeweils in einer wässrigen Lösung gegenüber einer "Wasser-Leerprobe" aufgelöst sind.

Um spektrophotometrische Bestimmungen der Menge einer bestimmten molekularen Substanz in einem Material oder Körperorgan mit unbekanntem Volumen und/oder unbekannter optischer Weglänge durchzuführen, ist die minimale Anzahl von erforderlichen Wellenlängen gleich der Anzahl von absorbierenden molekularen Substanzen plus der Streuung. Wenn die Geometrie des Eingangs und das Empfangen der Photonen in dem gemessenen System komplex ist, oder sich von Fall zu Fall ändert, oder wenn sich die Wellenlängenabhängigkeit der Streuung mit erheblichen Unterschieden bei den zwei Randwerten des verwendeten Spektralbereichs hinzufügt, können zusätzliche Wellenlängen erforderlich sein.

Aus Vereinfachungsgründen soll das erste Beispiel auf zwei verdünnte Komponente mit unbekannter Konzentration,

nämlich Hämoglobin (Hb; auch bekannt als De-oxyhämoglobin) und Oxyhämoglobin ( $\text{HbO}_2$ ) beschränkt sein. Die nach diesen verdünnten Komponenten zu analysierende Umgebung soll ein kleines Körperorgan (von der Größe einer Fingerspitze bis zum Kopf eines Babys) sein, wobei der konstante Medium-Absorber oder auch die "Bezugskomponente" mit bekannter Konzentration in diesem Falle Wasser ist. Die Betriebsart für diese Beobachtung ist die Durchleuchtung, wobei die Strahlungs-Eingangs- und Sammelpunkte (Detektion) an dem Finger oder dem Kopf diametral gegenüberliegen. Wenn sich die Absorptionskurven nicht überlappen, kann ein Verfahren mit vier Wellenlängen angewendet werden, wobei stillschweigend impliziert werden soll, daß die "Streuungs-Basislinie" flach ist, d.h. daß für die erforderliche Genauigkeit die Streuung als Wellenlängen-unabhängig angesehen werden kann.

In Figur 6 sind die durch Wasser und die zwei Hämoglobin-Arten verursachen, relativen Absorptions-Beiträge gezeigt, die sich an die normalen relativen Beiträge dieser drei Absorber in einem menschlichen Kopf annähern. In ähnlicher Weise ist der Beitrag von Cytochrom  $a, a_3$  zu der Gehirn-Absorption mit einem angenäherten Maßstab dargestellt (wobei das Spektrum des oxydierten Cytochrom  $a, a_3$  durch Kurve 4 und das Spektrum des entsprechenden reduzierten Enzyms durch Kurve 4a dargestellt ist); es ist jedoch zu beachten, daß in den Geweben eines Fingers nur eine vernachlässigbar kleine Konzentration dieses Enzyms vorhanden ist.

Betrachtet man nun den Bereich zwischen 900 und 1400 nm des nahen Infrarotspektrums, so ist zu beachten, daß die Beiträge von Hämoglobin jenseits von etwa 1150 nm vernachlässigbar werden. Die effektive optische Weglänge durch ein sehr kleines Körperteil, wie zum Beispiel

einen Finger, kann somit durch Messung an dem Trog (Minimum) bei 1270 nm sowie an beiden benachbarten Spitzen, d.h. bei näherungsweise 1200 oder 1400 nm bestimmt werden. Durch Subtraktion der Absorptionsgradwerte bei den zwei Wellenlängen voneinander kann der differenzielle Absorptionswert ermittelt werden. Wenn ein solcher differenzieller Absorptionswert durch den differenziellen Absorptionskoeffizienten (Extinction) für 1 cm Wasser dividiert wird, erhält man die scheinbare effektive Weglänge. Unter der Annahme einer gleichen und flachen Streuwirkung in dem benachbarten Bereich zwischen 700 und 900 nm und in Kenntnis der Tatsache, daß die Fingergewebe keine meßbare Menge von Cytochrom  $a, a_3$  oder andere, in diesem Bereich absorbierende Stoffe enthalten, ist es möglich, die genauen Mengen der zwei Hämoglobine durch eine Durchleuchtung mit zwei Wellenlängen in dem Bereich zwischen 700 und 900 nm sowie durch Verwendung des oben ermittelten, wegverlängernden Faktors zu berechnen.

Dieser sehr einfache Fall wird häufig durch eine Anzahl von Faktoren komplizierter. Im Falle der Durchleuchtung des Kopfes eines Babys ist es zum Beispiel aufgrund der Dicke des Kopfes nicht praktikabel, eine Wellenlänge wie zum Beispiel 1400 nm zu verwenden, bei der die Stärke der Absorption durch Wasser zu einem so hohen Lichtverlust führt, daß das Restsignal schwierig zu detektieren ist. In diesem Fall werden vier Wellenlängen in dem Bereich zwischen 900 und 1100 nm gewählt, und die Absorptionsintensitäten werden gemessen. Bei früheren Experimenten sind die Beiträge jedes absorbierenden Stoffes sowie der Lichtstreuung zur Extinction unter Verwendung von Näherungsmodellen ermittelt worden. Hierfür sind die entsprechenden Körperteile von Leichen oder entsprechende Tiermodelle am besten geeignet. Diese können alternativ mit einer Hämoglobin-freien Lösung,



mit Sauerstoff-freiem Blut (für den Hb-Beitrag) und mit vollständig oxygeniertem Blut (für den  $\text{HbO}_2$ -Beitrag) durchgeführt werden. Im letztgenannten Fall wird eine kleine Menge eines Giftes, wie zum Beispiel Zyanid, das die Sauerstoffverwendung durch das Gewebe verhindert, zugesetzt, um sicherzustellen, daß das Blut während der Beobachtung oxygeniert bleibt.

Die einzelnen Beiträge der drei absorbierenden Stoffe sowie der Streuung zu den Lichtverlusten (Absorption) in der bestrahlten Umgebung werden dann bei jeder der vier Wellenlängen addiert, um die Gesamtabsorptions-Gleichungen (im folgenden als "modifizierte Beer-Lambert-Gleichungen" bezeichnet) bei jeder Wellenlänge abzuleiten. Diese Gleichungen haben für eine Wellenlänge von 980 nm folgende Form:

$$\text{Abs}_{980} = x \text{ Hb} + y \text{ HbO}_2 + z \text{ H}_2\text{O} + \text{Streuung}$$

wobei  $\text{Abs}_{980}$  der Absorptionsgrad durch das bestrahlte System aufgrund der einfallenden Strahlung mit einer Wellenlänge von 980 nm bedeutet. Hb,  $\text{HbO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  sind die Konzentrationen von Hämoglobin, Oxyhämoglobin und Wasser in dem bestrahlten System, während die Faktoren x, y und z die relativen Intensitäten der Absorptions-Beiträge der zugeordneten Komponenten angeben. Der Teil "Streuung" hat den Faktor 1. Dies bedeutet, daß sein Beitrag normiert wurde. Die vier Wellenlängen werden so gewählt, daß die drei Faktoren x, y und z einen beträchtlichen Wertebereich aufweisen. Mit einer Auswahl von z.B. 940, 980, 1030 und 1070 nm wird eine gute Variation der relativen Werte der Beiträge von  $\text{H}_2\text{O}$ , Hb und  $\text{HbO}_2$  erreicht.

Aus dieser Information werden durch eine Matrixauflösung nach den vier Unbekannten (die Konzentrationen von drei absorbierenden Komponenten und die Streuverluste) in den

vier Gleichungen Algorithmen abgeleitet. Diese Algorithmen haben folgende Form:

$$HB = a \text{ Abs}_{940} + b \text{ Abs}_{980} + c \text{ Abs}_{1060} + d \text{ Abs}_{1100}$$

wobei die Werte der Konstanten a, b, c und d numerisch bestimmt werden, so daß sich ein Ausdruck für die Menge des Hämoglobins in dem System ergibt. Ähnliche Ausdrücke erhält man für  $\text{HbO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ . Der Beitrag der Streuung wird für die Algorithmen nicht berechnet, da er für eine analytische Abschätzung nicht relevant ist. Die Konstanten a, b, c usw. können positiv oder negativ oder größer oder kleiner als der Wert 1 sein.

Die oben beschriebene, auf Hämoglobin- und Oxyhämoglobin-Konzentrationen anwendbare Methodologie kann verallgemeinert und in einem weiteren Sinne als ein spektrophotometrisches Verfahren bezeichnet werden, mit dem quantitativ die Konzentration einer verdünnten Komponente in einer Umgebung bestimmt wird, die die verdünnte Komponente mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration in Kombination mit einer Bezugskomponente mit bekannter Konzentration enthält, indem die folgenden Schritte ausgeführt werden:

(a) Richten einer einfallenden elektromagnetischer Strahlung mit einer Anzahl von Wellenlängen in einem ausgewählten Spektralbereich, in dem die verdünnte und/oder Bezugskomponente eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung zeigt, auf die Umgebung, wobei die Anzahl dieser Wellenlängen durch die Anzahl der verdünnten und der Bezugskomponenten in der Umgebung und die Streueigenschaften der Umgebung bestimmt wird;

(b) Bestimmen des Absorptionsgrades der elektromagnetischen Strahlung durch die Umgebung bei den

verschiedenen Wellenlängen und der relativen Intensitäten der Absorptions-Beiträge der verdünnten und der Bezugskomponente sowie der Streuverluste in der Umgebung bei diesen Wellenlängen;

(c) Aufstellen der Absorptionsgleichungen bei jeder der oben genannten Wellenlängen in folgender Form:

$$\text{Abs}_w = \sum_{i=1}^n x_i A_i + zR + S$$

wobei  $\text{Abs}_w$  der Absorptionsgrad der Umgebung, die die verdünnte und die Bezugskomponente enthält, für die einfallende elektromagnetische Strahlung bei der Wellenlänge  $w$  ist,  $x_i$  die relative Intensität des Absorptions-Beitrages der zugeordneten verdünnten Komponente  $A_i$  ist, und der Ausdruck  $x_i A_i$  für jede verdünnte Komponente angegeben wird;  $n$  bezeichnet die Anzahl von verdünnten Komponenten,  $z$  bezeichnet die relative Intensität des Absorptions-Beitrages der Bezugskomponente, mit  $R$  wird die Konzentration der Bezugskomponente bezeichnet, während  $S$  die normierte Streuung der Umgebung bei der Wellenlänge  $w$  ist. Auf diese Weise wird für jede der oben genannten Wellenlängen eine Absorptionsgleichung aufgestellt, so daß sich ein Satz von simultanen Gleichungen ergibt, deren Anzahl gleich der Anzahl von verdünnten und Bezugskomponenten sowie der Anzahl von erforderlichen Wellenlängen ist, um die Streuung in der Umgebung zu charakterisieren;

(d) Ableiten von Algorithmen durch Matrixauflösung der oben genannten simultanen Gleichungen, wobei diese Algorithmen folgende Form aufweisen:

$$[c] = \sum_{i=1}^m a_i \text{Abs}_{wi}$$

wobei  $[c]$  die Konzentration der spezifischen verdünnten oder Bezugskomponente,  $a_i$  eine bestimmte numerische

Konstante,  $m$  die Anzahl von Wellenlängenbestimmungen und  $Abs_{w_i}$  der Absorptionsgrad bei der Wellenlänge  $w$  ist. Damit wird die Konzentration jeder verdünnten und Bezugskomponente in der Umgebung formuliert.

Bei dem zuvor beschriebenen spezifischen Beispiel der Bestimmung der Konzentrationen von Hämoglobin und Oxyhämoglobin kann das  $H_2O$ -Signal zur Ermittlung des wegverlängernden Faktors für die Konzentrationsberechnungen verwendet werden. Auf diese Weise kann die Menge von Hb und  $Hb_2$  in Konzentrationen mit Einheiten Gramm pro Liter umgerechnet werden. Es soll darauf hingewiesen werden, daß sich dieser Ausdruck auf ein inhomogenes Streusystem bezieht, auch wenn es sich bei dem Ausdruck um eine wahre Konzentration handelt. Das Hämoglobin ist nicht nur getrennt in den roten Blutzellen enthalten, und das beobachtete Wasser ist nicht nur das Wasser, was in dem Blutplasma vorhanden ist, sondern auch Wasser in den Zellen und Lymphgefäßen. Die Konzentrationseinheiten sind somit nicht direkt mit denjenigen (Gramm pro 100 ml) vergleichbar, die klinisch für Blut verwendet werden. Die letztgenannten Einheiten können jedoch ermittelt werden, wenn nur die zusätzliche Menge von Blut betrachtet wird, die den Finger mit jedem Herzschlag anschwellen läßt. Dieses pulsartige Signal wird zum Beispiel in dem allgemein bekannten Verfahren der Puls-Oxymetrie verwendet.

Bei der Puls-Oxymetrie wird die Farbe des zusätzlichen Blutes, das den Finger mit jedem Puls anschwellen läßt, bestimmt, d.h. die relativen Mengen von Hb und  $HbO_2$ , so daß ein Maß für den Grad der Sauerstoffsättigung in dem Blut geschaffen wird. Mit diesem Verfahren können jedoch keine Informationen über den Gesamtanteil des Hämoglobins im Blut erhalten werden. Das Hinzufügen eines Maßes für den Anstieg von Wasser mit jedem Puls

kann dadurch erreicht werden, daß ein  $H_2O$ -Absorptionssignal zur Messung jedes pulsartigen Anstiegs des Blutvolumens in dem Finger verwendet wird. Auf diese Weise kann die tatsächliche Hämoglobin-Konzentration in dem Blut berechnet werden. Diese Zahl ist ein allgemeiner Wert, der nicht auf das spezifische Organ (wie zum Beispiel den Finger), von dem er abgeleitet wurde, begrenzt ist. Der auf diese Weise bestimmte Hämoglobingehalt enthält wichtige diagnostische Informationen für solche Zustände wie Anämie oder Polyzythämie. Ferner ist der Hämoglobingehalt zum Bestimmen des tatsächlichen Sauerstoffgehaltes des Blutes erforderlich, da der größte Anteil davon in Kombination mit dem Hämoglobin in Form des Oxyhämoglobins transportiert wird. Mit dem bekannten Hämoglobingehalt und dem Prozentsatz der  $O_2$ -Sättigung des Hämoglobins, die mit einer Standard-Oxymetrie ermittelt wird, kann der wesentlich wichtigere  $O_2$ -Gehaltsparameter sehr einfach berechnet werden.

In anderen Organen mit wesentlich größerem Durchmesser, z.B. dem Kopf, der limbischen Muskulatur usw., kann so lange eine Durchleuchtung durchgeführt werden, wie die Dicke des Gewebes nicht den Empfang eines instrumentell auswertbaren Signals nach dem Hindurchtreten der ausgesendeten Strahlung durch das Gewebe ausschließt. In diesem Zusammenhang ist zu berücksichtigen, daß 1 cm Wasser näherungsweise 80 % der durch dieses hindurchgestrahlten nahen Infrarotstrahlung mit einer Wellenlänge von 1400 nm absorbiert. Die Durchleuchtung des Kopfes eines Kindes mit einem Durchmesser von 5 cm würde eine Extinction von näherungsweise von 99,97 % der einfallenden Photonen im nahen Infrarotbereich allein durch Absorption zur Folge haben. In trüben Proben kann der Verlust jedoch ansteigen und durch Verluste aufgrund von Streuungen, die nicht zum Detektor gerichtet sind, sowie

von zusätzlichen Absorptionen überschattet werden, die einer Wegverlängerung zuzurechnen sind, die durch mehrfache Streuung von Photonen, die eventuell den Detektor erreichen, erzeugt wird. Auch wenn diese Lichtverluste sehr schwerwiegend sind, sind in solchen Situationen trotzdem auswertbare Signale abgeleitet worden. Das obige Beispiel stellt jedoch die Grenze der gegenwärtigen Durchleuchtungsverfahren dar, die auf menschliche Organe und Körperteile anwendbar sind.

Für die Anwendung bei größeren festen Organen muß anstelle der Durchleuchtung eine Reflexionsgrad-Betriebsart angewendet werden. Bei der Reflexionsgrad-Betriebsart kann zum Beispiel bei der Anwendung am Kopf eines Erwachsenen Licht in geeigneter Weise an einer ersten Stelle an der Stirn eingeleitet und an einer zweiten Stelle an der Stirn, die mehrere Zentimeter von der ersten Stelle beabstandet ist, wieder aufgefangen werden. Die empfangenen Photonen sind durch die Kopfhaut und den Schädel hindurchgetreten und sind mit die kortikalen Schichten des Gehirns in Wechselwirkung getreten, bevor sie wieder nach außerhalb gestreut wurden. Für diese Reflexionsgrad-Betriebsart wurde die besondere Bedeutung der Erfindung dargestellt.

Der durch Reflexionsgrad-Messungen der Strahlungsintensität ermittelte zerebrale Gehalt an Hb und HbO<sub>2</sub> kann dann mit dem beobachteten Gesamtwasser in Bezug gesetzt werden, wodurch ein Maß der Menge des Blutes im Gehirn in Bezug auf die Menge des Wassers, auf das der Photonenstrom vom Eingang bis zu den Sammelpunkten trifft, geschaffen wird. Das Blut im Gehirn ist in hohem Maße in den Erythrozyten (rote Blutzellen) aufgespalten, die natürlich in dem vaskulären Raum vorhanden sind. Die gemessenen Mengen sind jedoch auf den Gesamt-Wasserinhalt bezogen, der hauptsächlich im Blut, in den

Gehirnzellen und in den meningealen Räumen und im geringerem Ausmaß auch in den Knochen und in der Haut vorhanden ist. Die ermittelte Konzentration wird somit in Mengen von Hb (oder  $\text{HbO}_2$ ) pro Anteil des gesamten "Wassers im Kopf" oder "Gewebewassers" angegeben. Das meiste, jedoch nicht sämtliches Gewebewasser wird somit aus dem Gehirn sein, so daß es gut mit dem Wassergehalt der anderen weichen Gewebe vergleichbar ist. Auch wenn dieser ungewöhnliche Ausdruck zunächst etwas unrealistisch erscheint, hat er im Zusammenhang mit dem analytischen Verfahren gemäß der Erfindung eine wesentliche Bedeutung. Es ist zu beachten, daß der gesamte Wasserinhalt des Gewebes und insbesondere des Gehirns einen ziemlich konstanten Anteil des Gesamtgewichts ausmacht. Dieses Wasser erfüllt somit die Voraussetzungen für eine spektroskopische "Bezugskomponente". Nebenbei soll angemerkt werden, daß in Fällen von Ödemen eine Verschiebung des Wassers vom Blut und den Lymphgefäßen in die Zellen stattfindet. Im Gehirn führen zerebrale Ödeme aufgrund der unelastischen Eigenschaft des Cranium, das ein praktisch geschlossenes System bildet, zu einem erhöhten intra-cranischen Druck und folglich zu einem Herausdrücken von meningealer Flüssigkeit und Blut. Der gesamte intra-craniale Wassergehalt bleibt jedoch gleich. Der Verlust von Hämoglobin im Vergleich zu dem Signal des Gesamtwassers stellt übrigens eine ausgezeichnete eingriffsfreie Indikation eines intra-cranialen Druckaufbaus dar, der potentiell zu erheblichen Leiden führen kann.

In dem vorhergehenden Beispiel wurde die Absorption durch das hauptsächlich den Sauerstoff ausnutzende Enzym Cytochrome-c-oxidase ("Cytochrome  $a, a_3$ " oder "Cyt  $a, a_3$ ") unberücksichtigt gelassen. Angesichts des von diesem Enzym verursachten, relativ geringen Beitrags zu dem Gesamtspektrum ist der sich ergebende Fehler der

Hämoglobin-Daten vernachlässigbar. In dem Fall jedoch, in dem Cyt  $a, a_3$ - Informationen gewünscht werden, sind zwei oder mehr geeignet beabstandete Wellenlängen erforderlich, und zwar eine im Bereich von 825 nm und die andere im Bereich von 865 nm. Auch wenn in diesem genauen Bereich kein Band des Wassers vorhanden ist, ist der Spitzenwert von 980 nm relativ nahe, und Hämoglobin, das in beiden Bereichen absorbiert, kann als überbrückende Referenz zu Bestimmung der Enzymkonzentration verwendet werden.

Bevor die Vorrichtung beschrieben wird, die zur Durchführung der oben genannten Messungen verwendet werden kann, sollen drei Vorbehalte im Hinblick auf das bei dem oben genannten Beispiel angewendete allgemeine Prinzip gemacht werden.

Der erste Vorbehalt stellt die Tatsache dar, daß eine schmalbandige, d.h. relativ monochromatische Lichtquelle einen wesentlichen Vorteil bei der Formulierung von treffenden Algorithmen darstellt. Aus Figur 6 geht klar hervor, daß eine Photonenquelle, die schmalbandiges Licht zum Beispiel mit einer Breite von 5 nm erzeugt, wesentlich geringere Überlappungen zwischen den Absorptionscharakteristiken erzeugt, als eine breite Lichtquelle, deren Photonen eine Wellenlängenstreuung von zum Beispiel von 50 nm aufweisen.

Der zweite Vorbehalt folgt direkt aus dem ersten. Wenn eine andere Lichtquelle verwendet wird, die sich auch nur geringfügig bezüglich ihrer Mitten-Wellenlänge oder ihrer Bandbreite von der alten Lichtquelle unterscheidet, müssen neue Algorithmen aufgebaut werden.

Der dritte Vorbehalt beruht darauf, daß die Ausübung der Erfindung im starken Maße von der Entwicklung entweder



einer Einrichtung zur Übersetzung der Ergebnisse in Ausdrücke eines allgemein akzeptierten Standards, wie zum Beispiel spektrophotometrischer Daten in klaren Lösungen, oder von der neuen Entwicklung einer umfangreichen Datenbasis abhängig ist, in der durchgesetzte Standards nicht relevant sind, wie zum Beispiel in heterogenen Systemen, wie dem Gehirn.

Das apparative System, das zur Durchführung der Bestimmungen erforderlich ist, um die Erfindung auszuüben, umfaßt vorzugsweise die folgenden Komponenten:

- (a) Einrichtungen zum Erzeugen von Licht mit veränderlichen Wellenlängen, das in das Gewebe oder das Körperteil eintritt, das im Hinblick auf seine verdünnten Komponente zu charakterisieren ist;
- (b) Einrichtungen zum Detektieren von Licht, das aus dem Körperteil austritt oder von diesem reflektiert wird;
- (c) Einrichtungen zum Trennen von verstärkenden Signalen sowie zur anderweitigen Behandlung der Signale, die von der Lichtquelle/den Lichtquellen bei verschiedenen Wellenlängen herrühren;
- (d) Einrichtungen zum Berechnen der Mengen der absorbierenden Stoffe unter Verwendung von Algorithmen, die für diese Lichtquellen hergeleitet wurden; und
- (e) Einrichtungen zum Anzeigen der Ergebnisse in Einheiten von Konzentrationen (d.h. Mengen pro Menge Wasser oder einer anderen Bezugskomponente) oder in Bruchteils-Mengen (wie z.B. die Menge der verdünnten Komponente in Relation zu der Menge einer Bezugskomponente mit Ausnahme von Wasser in dem zum Bestimmen

der verdünnten Komponente mit unbekannter Konzentration zu messenden Körperteil).

Figur 7 zeigt einen schematischen Aufbau eines spektrophotometrischen Systems zur quantitativen Bestimmung der Konzentration von verdünnten Blutkomponenten in einem menschlichen Finger in bezug auf das in dem Finger enthaltene Wasser.

Wie bereits weiter oben erwähnt wurde, muß zunächst die Menge des Wassers, auf das die Photonen in einem Körperteil treffen, ermittelt werden. Dies kann entweder durch Messungen in einem Spektralbereich, in dem Wasser praktisch der einzige absorbierende Stoff ist, oder durch eine differenzielle Mehrwellenlängen-Spektrophotometrie geschehen, wenn andere absorbierende Stoffe vorhanden sind. Das Wasser in einem menschlichen Finger kann am besten durch geeignete spektrophotometrische Bestimmungen an Fingern von Leichen bestimmt werden. Wenn solche Messungen in einem Bereich des Absorptionsbandes vorgenommen werden müssen, das sich mit Hämoglobin überlappt, muß das Blut durch eine geeignete, nicht-absorbierende, streuende Flüssigkeit ersetzt werden, um die Streuung durch die roten Blutzellen zu imitieren. Beispiele für geeignete Streuflüssigkeiten sind Fluorkohlenstoff-Blutersatzlösungen, Kalziumcarbonat-Suspensionen in einer Salzlösung usw. Mit solchen "blutfreien" Systemen können die spektrophotometrischen Eigenschaften von Fingern einer Leiche gegenüber reinem Wasser als Bezugsstandard bestimmt werden, um die scheinbare effektive optische Weglänge der Strahlung in einem gegebenen Spektralbereich, wie er durch den Finger zur Bewirkung einer Durchleuchtung hindurchtritt, zu bestimmen. Durch zahlreiche Bestimmungen dieser Art kann eine Datenbank der optischen Längen von verschiedenen Arten von menschlichen Fingern (z.B. von Babys,

Heranwachsenden, Erwachsenen, sowie von farbigen, asiatischen, orientalischen Menschen usw.) aufgestellt werden. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, daß Melanin ein Pigmentierungsstoff ist, der in Abhängigkeit von der Rasse und der Herkunft des Menschen in unterschiedlichen Mengen vorhanden ist. In einigen Fällen kann es wünschenswert sein, Melanin oder andere, die Pigmentierung betreffenden Mittel als zusätzliche absorbierende Stoffe in dem System zu behandeln und zusätzliche Schritte zur Strahlungs-Ausrichtung und -Messung bei einer oder mehreren zusätzlichen Wellenlängen zur Bestimmung der Konzentration der gewünschten verdünnten Komponente in dem untersuchten Körpersystem vorzusehen. Alternativ dazu können Routinen zur Datenerfassung und zur Berechnung der Algorithmen als Programm in einem auf einem Mikroprozessor basierenden System realisiert sein, um zu Beginn einer Überwachungsperiode einen Satz von Algorithmen zu erzeugen, der für einen bestimmten Patienten geeignet ist.

Im Anschluß daran kann der Finger einer Testperson mit einer Strahlung mit verschiedenen Wellenlängenwerten durchleuchtet werden, wobei die Anzahl dieser Wellenlängen dem Genauigkeitsgrad entspricht, der für die Konzentration, die im Hinblick auf relevante verdünnte Komponente zu bestimmen ist, erforderlich ist. Die Anzahl von Wellenlängen, bei denen Messungen durchgeführt werden, hängt, wie oben erläutert wurde, von der Anzahl von absorbierenden Stoffen in System (Bezugskomponente und verdünnte Komponente (n)) sowie der wellenlängenabhängigen Eigenschaft der Basislinie ab, die indikativ für die Streuverluste in der durchleuchteten oder für Reflexionsgrad-Messungen bestrahlten Umgebung ist.

Aus den verschiedenen Absorptionsgrad- und/oder Reflexionsgrad-Messungen bei den ausgewählten Wellenlängen wird eine Reihe von simultanen Gleichungen der oben erläuterten Art aufgestellt. Nach Auflösung mit der Matrix-Algebra werden Algorithmen entworfen, in denen die Konzentration als Summation der einzelnen Absorptionsgrad-Werte ausgedrückt ist, die bei der gegebenen Wellenlänge, multipliziert mit einem dimensionslosen Koeffizienten, bestimmt werden. Wenn die Menge der unbekannten verdünnten Komponente, die in der Probe (d.h. einen Körperorgan) vorhanden ist, bestimmt wurde, kann diese ins Verhältnis zu dem mit Wasser erzielten Signal gesetzt werden, um einen Wert in Einheiten der Konzentration in dem Gesamtwasser des Organs zu erhalten.

Bei einer anderen Ausführungsform kann die Gesamt-Hintergrundsubtraktion verwendet werden, um nur die Anstiege in dem Blut in einem pulsierenden Organ oder Körperteil, wie zum Beispiel einem Finger, zu ermitteln und eine Bestimmung der Konzentration von im Blut vorhandenen Mitteln in dem Blut zu erhalten, wobei es sich z.B. um folgende Stoffe handeln kann: Hämoglobin, Abfallprodukte, wie z.B. Amoniak, Harnstoff, Creatin und Kohlendioxyd; Substanzen und Metaboliten, wie Glucose, Lipide und Cholesterin; sowie Gifte wie z.B. Kohlenmonoxyd, Zyamid und Arsen usw.

Bei der in Figur 7 gezeigten Anwendung der Vorrichtung sind an dem Finger 10 zwei "Optroden"-Anordnungen 12 befestigt, die eine Quellenoptrode 14 und eine Sammeloptrode 16 umfassen. Die Richtung der Durchleuchtung ist nebensächlich: in bestimmten Fällen kann jedoch ein Weg durch den Fingernagel vorgezogen werden.

Die Quellenoptrode 14 ist über ein optischer Faserkabel 16 mit einer Lichtquelle 18 verbunden, die bei dieser beispielhaften Ausführungsform einen mehrfachen Festkörperlaser umfaßt, der über eine Leistungs-Versorgungsleitung 22 von einer Leistungsquelle 20 versorgt wird. Die Laserquelle 18 emittiert elektromagnetische Strahlungen in dem nahen Infrarotbereich, jeweils mit monochromatischem Charakter, die mit dem optischen Faserkabel 16 zu der Optrode 14 übertragen wird, um auf die entsprechende Fläche des Fingers 10 einzufallen und diesen zu durchleuchten.

Die sich ergebende ausgesendete elektromagnetische Strahlung wird von der Detektor-Optrode 16 empfangen und über ein optisches Faserkabel 24 einem geeigneten Wandler 26 zugeführt, der bei dieser beispielhaften Ausführungsform eine Photoelektronen-Vervielfacherröhre aufweist, die über eine Leistungsversorgungs-Leitung 30 von einer Hochspannungs-Leistungsversorgung 28 gespeist wird. Das erfaßte Durchleuchtungssignal, das von dem optischen Faserkabel zu der Photoelektronen-Vervielfacherröhre geführt wird, wird damit verstärkt und durch eine Signal-Übertragungseinrichtung 32 einem Signal-Verarbeitungsmodul 34 zugeführt. In dem Fall, in dem ein mit niedriger Spannung versorgter "Festkörperdetektor" mit kleinen Abmessungen verwendet wird, kann dieser in die Detektor-Optrode eingesetzt werden. Das optische Faserkabel 24 wird dann durch eine direkt zu dem Objekt geführte elektrische Leitung ersetzt.

Wie in der Darstellung zu erkennen ist, enthält das optische Faserkabel 16 eine kleine, getrennte Bündel-Zweigleitung 36, die einen Anteil des monochromatischen Lichtes der Laserquelle 18, das direkt von der Haut zurückgestreut wird, überträgt. Dieses wird mit der Zweigleitung 36 auf eine Photodiode gerichtet, die ein

elektrisches Signal über die Signalleitung 40 zu dem Berechnungsmodul 34 überträgt, das zum Beispiel einen elektronischen Digitalcomputer oder eine zugeordnete Mikroprozessoreinheit oder mehrere solcher Einheiten aufweisen kann.

In dem Berechnungsmodul 34 werden die durch die Photodiode 38 und die Photoelektronen-Vervielfacherröhre 26 übertragenen elektrischen Signale gespeichert, so daß ein Maß für die Intensitäten der eingefallenen und detektierten Strahlungen, zusammen mit gespeicherten oder berechneten Systemparametern, geschaffen wird. Aus diesen variablen und vorprogrammierten Algorithmen oder mit den oben genannten simultanen Absorptions-Gleichungen, die aufgestellt und durch Matrixberechnung zur "direkten" Gewinnung dieser Algorithmen aufgelöst wurden, wird/werden die Konzentration(en) der ausgewählten verdünnten Komponenten berechnet und in Form von Mengen dieser Komponenten in bezug auf die Mengen von Wasser oder eine andere Bezugskomponente in dem Fingersystem angegeben.

Bei der bevorzugten Anwendung der Erfindung bei physiologischen Systemen müssen die aufeinanderfolgenden Schritte der Ausrichtung der Strahlung und der Messung in Perioden ausgeführt werden, die wesentlich kürzer sind, als die metabolische Reaktions-Kinetik der Körperumgebung.

Das Berechnungsmodul kann diese Konzentrations-Daten als Ausgangsdaten über eine Einrichtung 34a mit geeigneten Meßgeräten oder Streifenblattschreibern u.ä., kontinuierlich erzeugen und die ausgegebenen Konzentrations-Daten für eine spätere Verwendung auf einer digitalen Scheibe (CD) oder einer ähnlichen Speichereinrichtung aufzeichnen, die dem Berechnungsmodul zugeordnet ist.

Figur 8 zeigt schematisch ein System, dessen Komponenten mit Ausnahme der Optroden 114 und 116 dem in Figur 7 gezeigten System entsprechen, wobei die Optroden für eine Reflexionsgrad-Betriebsart der Spektrophotometrie in voneinander beabstandeten Bereichen der Stirn eines Menschen 110 angeordnet sind. Alle anderen, in Figur 8 gezeigten Systemelemente sind identisch mit den entsprechenden Gegenständen in Figur 7 nummeriert, wobei den in Figur 7 verwendeten Bezugsziffern der Wert 100 hinzuaddiert wurde.

Bei dem in Figur 8 gezeigten System wird die einfallende elektromagnetische Strahlung von der Optrode 114 abgegeben, mit der Photonen erzeugt werden, die sowohl in die Haut und die Knochenschicht, als auch in die grauen und weißen Bereiche des Kopfes des Patienten eintreten können. Diejenigen Photonen, die zu der Optrode 116 reflektiert werden, werden erfaßt. Das sich ergebende Detektionssignal wird über das optische Faserkabel 124 zu den Photodetektor- und Berechnungsmodul-Komponenten gemäß der Beschreibung im Zusammenhang mit Figur 7 übertragen.

Auch wenn die Erfindung in erster Linie mit Bezug auf die Detektion und Bestimmung von Konzentrationen von verdünnten Komponenten beschrieben wurde, bei denen es sich um Gewebekomponenten und in Körperteilen (Gesamtgewebe-/Gesamtorgan-Umgebungen) wie Fingern, Händen, Zehen, Füßen, Ohrläppchen, Kopf usw. vorhandene Blutbestandteile handeln kann, und zwar unter Verwendung von Strahlung im nahen Infrarotbereich, ist es klar, daß die Anwendbarkeit der Erfindung nicht darauf beschränkt. Das erfindungsgemäße Verfahren kann zur Bestimmung jeder verdünnten Komponente in einer Umgebung (Medium) verwendet werden, die eine Bezugskomponente mit bekannter Konzentration enthält, sowie in jedem Bereich des

elektromagnetischen Spektrums, in dem spektrophotometrische Absorptionsverfahren durchgeführt werden können.



# HANSMANN · KLICKOW · HANSMANN

PATENTANWÄLTE

EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

DIPL.-ING. DIERK HANSMANN · DR.-ING. HANS-HENNING KLICKOW · GEORG HANSMANN (1977)

Telephone international: (++ 49 40) 38 24 57 / 3 89 84 45 · Facsimile international: (++ 49 40) 3 89 35 02  
JESSENSTRASSE 4 · 22767 HAMBURG · TEL. (040) 38 24 57 / 3 89 84 45 · FAX (040) 3 89 35 02

88 908 892.8-2305

(P.5906 EU/DE)

Anmelderin: VANDER CORPORATION  
P. O. Box 2725  
DURHAM, NC 27705-0725/USA

## P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration mindestens einer ersten verdünnten Komponente in einem Körperteil, das die verdünnte Komponente oder Komponenten mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration enthält, mit folgenden Verfahrensschritten:

(a) Verwenden von Wasser als eine Bezugskomponente der bekannten Konzentration, Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung mit einer ersten Wellenlänge im nahen Infrarotbereich in einem ausgewählten Spektralbereich, bei dem Wasser eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung zeigt,

(b) Messen der Strahlung mit der ersten Wellenlänge, die von dem Körperteil abgegeben und/oder reflektiert wird,

(c) Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung mit mindestens einer anderen Wellenlänge in dem ausgewählten Spektralbereich, bei der die verdünnte Komponente oder die Komponenten eine Absorption mit einer unterschiedlichen relativen Intensität oder Intensitäten gegenüber der einfallenden Strahlung mit der ersten Wellenlänge zeigt/zeigen, wobei die Anzahl der Wellenlängen der verwendeten einfallenden Strahlung um mindestens den Wert 1 größer ist, als die Anzahl von Bezugs- und verdünnten Komponenten,

(d) Messen der anderen Wellenlängen der von dem Körperteil abgegebenen und/oder reflektierten Strahlung,

(e) Verwenden der Werte der Lösungskoeffizienten für jede Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen, die in entsprechenden Körperteilen bestimmt wurden,

(f) Ableiten einer Gleichung für die Absorption bei jeder Wellenlänge als Summe der relativen Absorptionen jeder Komponente bei der Wellenlänge plus einer Streuung, wodurch eine Matrix von Gleichungen geschaffen wird, die nach der Konzentration für jede Komponente aufgelöst werden können,

(g) Bestimmen der scheinbaren effektiven Weglänge in dem Körperteil durch Dividieren der Absorption des Wassers durch das Produkt aus dem bekannten

...

Löschungskoeffizienten für Wasser mal der bekannten Konzentration des Wassers, und

(h) Bestimmen der relativen Menge der verdünnten Komponente zu der Menge der Bezugskomponente als Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil auf der Basis der scheinbaren effektiven, für den Körperteil bestimmten Weglänge sowie unter Verwendung der Werte der Löschungskoeffizienten für jede verdünnte Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen und der gemessenen absorbierten und/oder reflektierten Strahlung bei den Wellenlängen, durch Dividieren der Absorption/Reflektion von jeder Komponente durch die Weglänge mal dem Löschungskoeffizienten für diese Komponente.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Bestimmung von Schritt (g) durch Aufstellen von gleichzeitig modifizierten Beer-Lambert-Gleichungen für jeden der Absorptions/Streuungs-Meßschritte bewirkt wird, sowie Auflösen der Gleichungen nach den Konzentrationen der verdünnten Komponente oder der Komponenten und der Bezugskomponente in dem Körperteil.
3. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem eine zweite verdünnte Komponente mit unbekannter Konzentration in dem Körperteil vorhanden ist und die elektromagnetische Strahlung mit einer vierten Wellenlänge in dem ausgewählten Spektralbereich auf den Körperteil gerichtet wird, bei der die zweite verdünnte Komponente eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung zeigt, und die von dem Körperteil abgegebene und/oder reflektierte Strahlung mit der vierten Wellenlänge gemessen und zur Bestimmung der relativen Menge der zweiten verdünnten Komponente

im Verhältnis zu der Menge der Bezugskomponente verwendet wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der Körperteil eine Streuung der elektromagnetischen Strahlung in einem Ausmaß bewirkt, das eine abfallende lineare Beziehung zu der Wellenlänge aufweist, und bei dem die abgegebene und/oder reflektierte Strahlung bei zwei zusätzlichen Wellenlängen gemessen wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der Körperteil eine Streuung der Wellenlänge der elektromagnetischen Strahlung bewirkt, die eine nicht-lineare Funktion der Wellenlänge ist und bei dem die abgegebene und/oder reflektierte Strahlung bei mindestens drei zusätzlichen Wellenlängen gemessen wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der Körperteil aus einer Gruppe ausgewählt wird, die aus Körpergewebe und Körperorganen besteht.
7. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die verdünnte Komponente aus einer Gruppe ausgewählt wird, die aus Gewebekomponenten und Arten besteht, die aus Blut entstanden sind.
8. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem zumindest die erste verdünnte Komponente aus einer Gruppe ausgewählt wird, die aus Enzymen, Metaboliten, Substraten, Abfallprodukten und Giften besteht.
9. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem zumindest die erste verdünnte Komponente aus einer Gruppe ausgewählt wird, die aus Glukose, Hämoglobin, Oxihämoglobin und Cytochrom  $a, a_3$  besteht.

...

10. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem eine erste verdünnte Komponente und eine Bezugskomponente eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung in dem ausgewählten Spektralbereich zeigen, und bei dem eine zweite verdünnte Komponente keine Absorption der elektromagnetischen Strahlung in dem Spektralbereich zeigt, und bei dem die erste und zweite verdünnte Komponente eine Absorption der elektromagnetischen Strahlung in einem zweiten Spektralbereich zeigen, der in unmittelbarer Nähe zu dem ausgewählten Spektralbereich liegt und in dem die Bezugskomponente keine Absorption der elektromagnetischen Strahlung zeigt, mit einer Bestimmung der relativen Menge der ersten verdünnten Komponente zu der Menge der Bezugskomponente in dem ausgewählten Spektralbereich als Konzentration der ersten verdünnten Komponente in dem Körperteil, sowie einer Verwendung der ersten verdünnten Komponente, deren Konzentration auf diese Weise bestimmt wird, als Bezugskomponente für die zweite verdünnte Komponente in dem zweiten Spektralbereich.
11. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die elektromagnetische Strahlung eine Infrarotstrahlung mit einer Wellenlänge in einem Bereich von etwa 700 bis etwa 1.200 Nanometer ist.
12. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem nachfolgend zu der Bestimmung der Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil der Körperteil auf Änderungen der Konzentration überwacht wird.
13. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem nachfolgend zu der Bestimmung der Konzentration jeder verdünnten Komponente und des Wassers in dem Körperteil der

Körperteil überwacht wird, um Änderungen der Konzentrationen zu bestimmen.

14. Spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Konzentration von zumindest einer ersten verdünnten Komponente in einem Körperteil mit der verdünnten Komponente oder Komponenten mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration, mit folgenden Verfahrensschritten:

- (a) Verwenden von Wasser als Bezugskomponente der bekannten Konzentration,

- (b) Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung einer ersten Wellenlänge des nahen Infrarotbereiches in einem ausgewählten Spektralbereich, bei dem Wasser eine Absorption für die elektromagnetische Strahlung zeigt,

- (c) Messen der Strahlung der ersten Wellenlänge, die von dem Körperteil ausgeht und/oder reflektiert wird,

- (d) Bestrahlen des Körperteils mit einer elektromagnetischen Strahlung mit mindestens einer anderen Wellenlänge in dem ausgewählten Spektralbereich, bei der die verdünnte Komponente oder die Komponenten eine Absorption von unterschiedlichen relativen Intensitäten im Vergleich zu der der einfallenden Strahlung der ersten Wellenlänge zeigen, wobei die Anzahl von Wellenlängen der verwendeten einfallenden Strahlung um mindestens den Wert 1 größer ist, als die Anzahl von Bezugs- und verdünnten Komponenten,

- (e) Messen der anderen Wellenlängen der Strahlung, die von dem Körperteil ausgeht und/oder reflektiert wird,
  - (f) Verwenden der Werte der Löschungskoeffizienten für jede Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen in entsprechenden Körperteilen,
  - (g) Ableiten einer Gleichung für die Absorption bei jeder Wellenlänge als Summe der relativen Absorption jeder Komponenten bei der Wellenlänge plus einer Streuung, wodurch eine Matrix von Gleichungen geschaffen wird, die nach der Konzentration jeder Komponente aufgelöst werden können,
  - (h) Messen der Menge des Wassers in einem analogen Körperteilmodell,
  - (i) Bestimmen der Menge jeder verdünnten Komponente relativ zu der Menge von Wasser durch Dividieren der Menge jeder Komponente durch die Menge des Wassers.
15. Vorrichtung zur spektrophotometrischen quantitativen Bestimmung der Konzentration von mindestens einer ersten verdünnten Komponente in einem Körperteil, der die verdünnte Komponente oder Komponenten mit bekannter Identität, jedoch unbekannter Konzentration enthält, mit:
- (a) Einrichtungen (14) zum Erzeugen einer elektromagnetischen Strahlung mit bekannten Wellenlängen in dem nahen Infrarotbereich, sowie Richten der Strahlung in das im Hinblick auf die verdünnte Komponente oder die Komponenten zu charakterisierende Körperteil,

(b) Einrichtungen (16) zur Detektion elektromagnetischer Strahlung, die von dem Körperteil ausgeht und/oder von diesem reflektiert wird, sowie zur Erzeugung eines damit korrespondierenden elektrischen Signals,

(c) Einrichtungen (32) zum Empfang des elektrischen Signals und zum Erzeugen von elektrischen Signalen daraus, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen,

(d) einem Berechnungsmodul (34) zur Aufnahme der elektrischen Signale, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen, sowie zum Aufstellen von Absorptionsgleichungen, die von den elektrischen Signalen abhängig sind, die den verschiedenen Wellenlängen entsprechen, wobei die Absorption bei jeder Wellenlänge als Funktion der relativen Intensitäten der Absorptionsverteilungen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser, sowie den Konzentrationen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser ausgedrückt und die Mengen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser durch Auflösen der Absorptionsgleichungen berechnet wird, wobei jede dieser Gleichungen als eine Summe der relativen Absorption jeder verdünnten Komponente oder Wasser bei der betreffenden Wellenlänge plus einer Streuung definiert ist, und

(e) Einrichtungen zur Anzeige der berechneten Konzentrationen der verdünnten Komponente oder Komponenten und Wasser, wobei die Vorrichtung so konfiguriert ist, daß

(g) die scheinbare wirksame Weglänge in dem Körperteil durch Dividieren der Absorption des Wassers



durch das Produkt aus den bekannten Löschkoeffizienten für Wasser mal der bekannten Konzentration von Wasser bestimmt wird und

(h) die relative Menge der verdünnten Komponente zu der Menge der Bezugskomponente als Konzentration der verdünnten Komponente in dem Körperteil auf der Basis der scheinbaren wirksamen, für den Körperteil bestimmten Weglänge und unter Verwendung der Werte der Löschkoeffizienten für jede verdünnte Komponente bei der ersten und anderen Wellenlängen und der gemessenen absorbierten und/oder reflektierten Strahlung bei diesen Wellenlängen durch Dividieren der Absorption/Reflektion jeder Komponente durch die Weglänge mal dem Löschkoeffizienten für diese Komponente bestimmt wird.

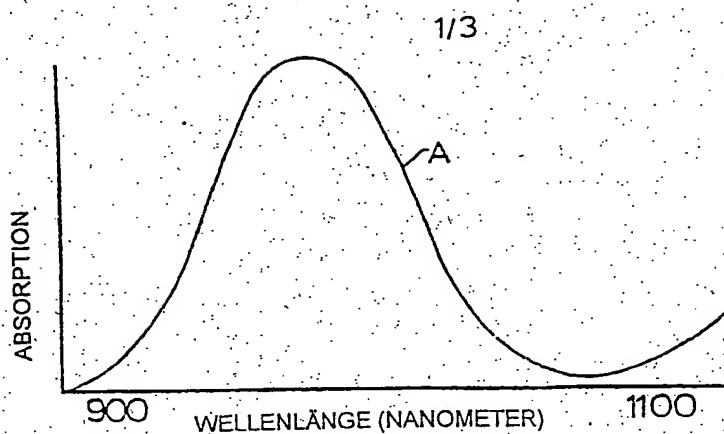


FIG. 1

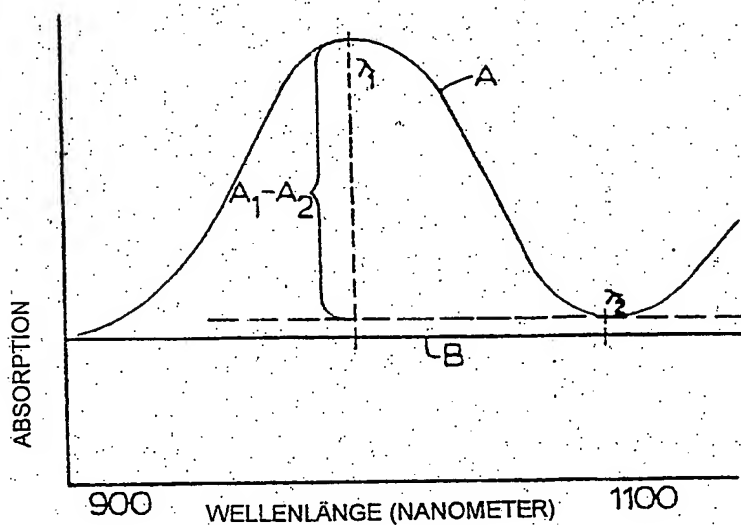


FIG. 2

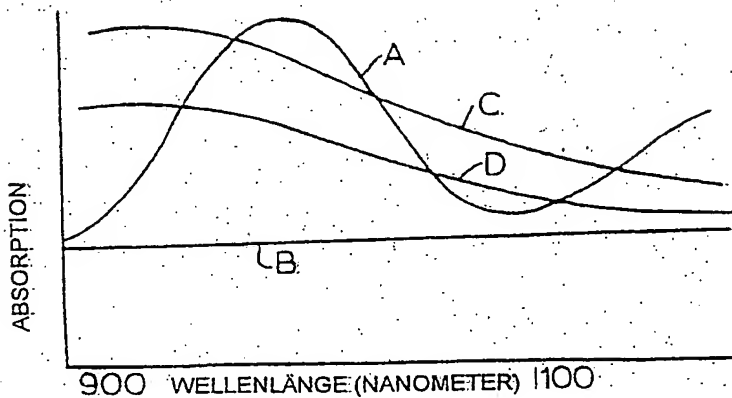


FIG. 3

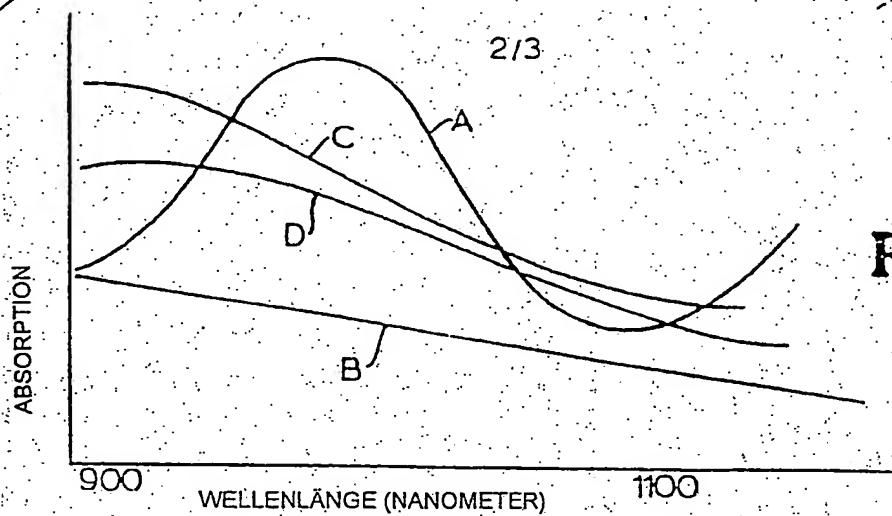


FIG. 4

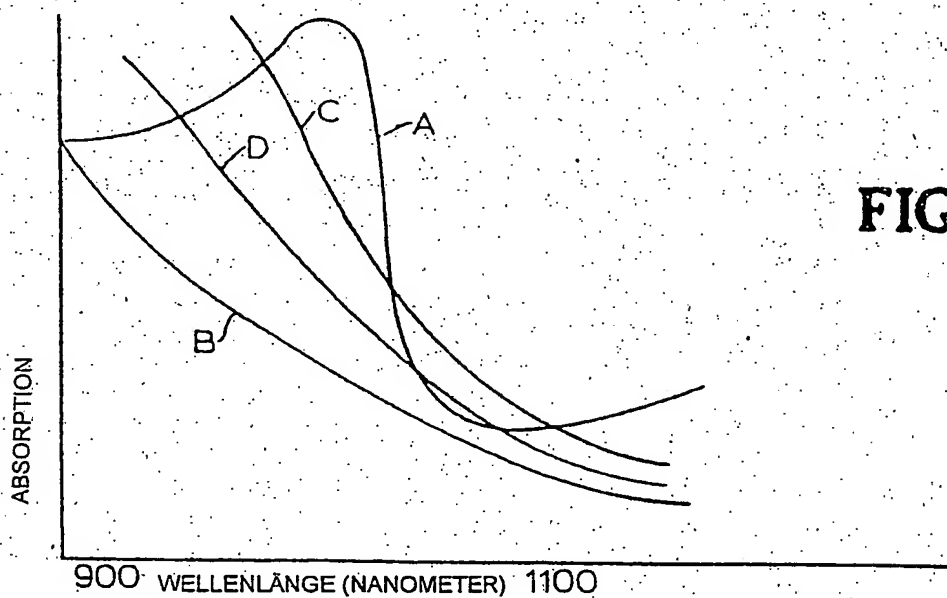


FIG. 5

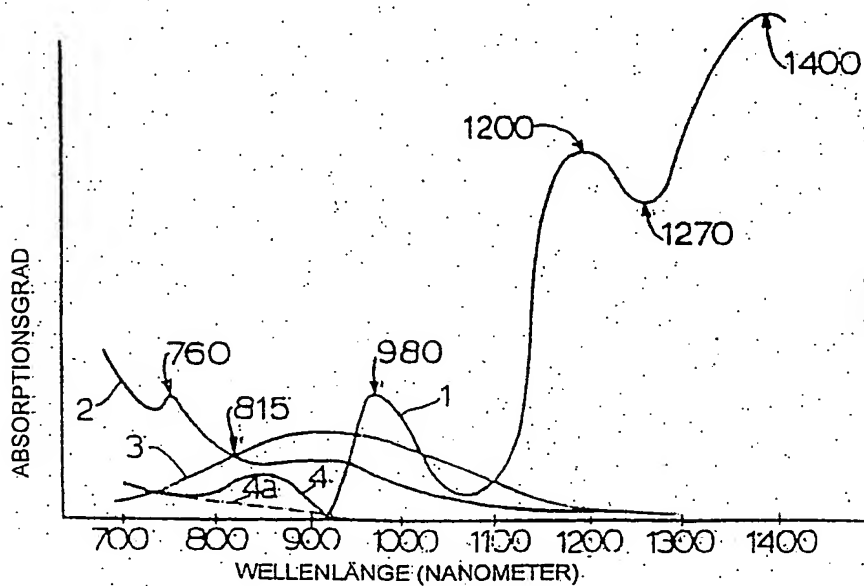


FIG. 6

